

**IMPORTANCIA DE LA DIETA EN LA
DIGESTIBILIDAD Y METABOLISMO DE HIERRO
Y CALCIO EN LA ADOLESCENCIA. INFLUENCIA
DEL CONSUMO DE PRODUCTOS DE LA
REACCIÓN DE MAILLARD**

TESIS DOCTORAL



Departamento de Fisiología
Facultad de Farmacia
Universidad de Granada



Unidad de Nutrición
Estación Experimental del Zaidín
CSIC, Granada

MARTA MESÍAS GARCÍA

Granada, 2007



Unidad de Nutrición
Estación Experimental del Zaidín
CSIC, Granada

Los trabajos de investigación que constituyen la Memoria de Tesis Doctoral “Importancia de la dieta en la digestibilidad y metabolismo de hierro y calcio en la adolescencia. Influencia del consumo de productos de la reacción de Maillard”, han sido realizados bajo nuestra dirección por la Licenciada Marta Mesías García, en las instalaciones de la Unidad de Nutrición Animal de la Estación Experimental del Zaidín (CSIC), de Granada, para aspirar al grado de Doctora en Farmacia. Esta Memoria refleja fielmente los resultados obtenidos.

Dra. M^a del Pilar Navarro Martos

Dra. Isabel Seiquer Gómez-Pavón

Granada, 2007



Unidad de Nutrición
Estación Experimental del Zaidín
CSIC, Granada

Esta Memoria de Tesis Doctoral se ha llevado a cabo gracias a una beca predoctoral de Formación de Profesorado Universitario, concedida por el Ministerio de Educación, Cultura y Deporte. Se ha desarrollado dentro del Proyecto de Investigación “Influencia de algunos productos de la reacción de Maillard sobre la utilización de minerales”, financiado por el Ministerio de Ciencia y Tecnología y, parcialmente dentro del Proyecto “Productos de la reacción de Maillard en la dieta de los adolescentes: evaluación de su ingesta y absorción”, financiado por la Consejería de Innovación, Ciencia y Empresa de la Junta de Andalucía.

Licenciada Marta Mesías García
Granada, 2007

Parte de los resultados expuestos en la presente Memoria de Tesis Doctoral han sido presentados y publicados en:

Congresos:

- XIV Congreso de la Sociedad Española de Medicina del Adolescente de la AEP. Granada, 2003. “Evaluación de los hábitos alimentarios en un colectivo de adolescentes de la provincia de Granada”. *Actualidad Médica* 89, 271-272.
- I Congreso de la FESNAD. Madrid, 2005:
 - “Valoración del contenido de minerales en la dieta: ¿Sistema informático o Análisis químico?”. *Nutrición Hospitalaria* XX, S 1, 158-159.
 - “Indicadores de la Reacción de Maillard en una dieta de consumo habitual“. *Nutrición Hospitalaria* XX, S 1, 73-74.
- XXXV Reunión de la Sociedad de Pediatría de Andalucía Oriental. Granada, 2005.
 - “Importancia del equilibrio dietético para la utilización del hierro durante la adolescencia”.
 - “Hábitos de vida y nutricionales en una muestra de adolescentes de la provincia de Granada”.
- 55º Congreso Nacional de la Asociación Española de Pediatría. Valencia, 2006. “Estrés oxidativo en adolescentes: ventajas de la dieta Mediterránea”.
- XI Reunión Científica de la Sociedad Española de Nutrición (SEN). Vitoria, 2006. “Disponibilidad del Calcio en batidos lácteos: ensayos en células caco-2”.
- European Iron Club Meeting. Barcelona, 2006:
 - “Effects of Maillard reaction products (MRP) consumption on iron status and functionality”.
 - “Diets rich in Maillard reaction products and iron availability: in vitro and in vivo assays”.

- I World Congress of Public Health Nutrition. Barcelona, 2006:
 “Idoneidad de la dieta Mediterránea para el desarrollo óseo durante la adolescencia”. *Public Health Nutrition* 9, 7(A), 136.
 “Dieta Mediterránea y utilización de la proteína en adolescentes”. *Public Health Nutrition* 9, 7(A), 136.
- XX Congreso Nacional de la Sociedad Española de Pediatría Extrahospitalaria y Atención Primaria. Granada, 2006. “Adolescencia y dieta Mediterránea. Todo son ventajas”.
- XVII Congreso de la Sociedad Española de Medicina del Adolescente (II). Alcalá de Henares, 2006. “Retención de calcio en adolescentes: beneficios de la dieta Mediterránea”. *Anales de Pediatría* (2007) 66, 220.

Publicaciones:

- “Dietary calcium utilization among a group of Spanish boys aged 11-14 years on their usual diets”. *J Physiol Biochem* 62 (1), 9-16, 2006.
- “A Mediterranean dietary style improves calcium absorption in healthy male adolescents”. *J Am Coll Nutr*, 2007 (en prensa).
- "Influence of feeding diets rich in Maillard reaction products on oxidative stress in humans". *Eur J Nutr*, 2007 (en consideración).

Premios:

- Premio Martínez Valverde al trabajo: “Una dieta saludable mejora la utilización del hierro en adolescentes”. Sociedad de Pediatría de Andalucía Oriental. 2005.
- Premio a la mejor comunicación “Adolescencia y dieta Mediterránea. Todo son ventajas”. XX Congreso Nacional de la Sociedad Española de Pediatría Extrahospitalaria y Atención Primaria. Granada, 2006.

Índice

Índice

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVO	3
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	9
1. Definición y características de la adolescencia	9
1.1. La nutrición en la adolescencia.	12
1.2. Necesidades nutricionales del adolescente	14
2. Calcio	17
2.1. Aspectos generales	17
2.2. Fuentes y requerimientos	18
2.3. Absorción, transporte y eliminación	19
a) Factores que afectan a la absorción	21
b) Eliminación	24
2.4. Deficiencia de calcio	27
2.5. Importancia del calcio en la adolescencia	28
3. Hierro	35
3.1. Aspectos generales	35
3.2. Fuentes y requerimientos	36
3.3. Absorción, transporte y eliminación	37
a) Factores que afectan a la absorción	38
b) Eliminación	44
3.4. Deficiencia de hierro	44
3.5. Importancia del hierro en la adolescencia	45
4. Tendencias actuales de consumo: hábitos alimentarios de los adolescentes	49

5. Reacción de Maillard	55
5.1. Descripción y aspectos generales	55
5.2. Factores que afectan a la reacción de Maillard	59
a) Composición del sistema	59
b) Contenido en humedad y estado fisicoquímico del sistema	61
c) pH	62
d) Temperatura y tiempo de calentamiento	63
e) Presión hidrostática	64
f) Otros factores que afectan a la velocidad de la reacción	65
5.3. Absorción y metabolismo de los PRM de origen alimentario	65
5.4. Aspectos tecnológicos	66
a) Modificación de las características organolépticas del alimento	66
b) Marcadores de la reacción de Maillard	68
c) Inhibición de la reacción de Maillard	69
5.5. Aspectos biológicos	70
a) Aspectos fisio-patológicos	70
a.1. Formación de sustancias antinutritivas y tóxicas	70
a.2. Efectos alérgicos y antialérgicos	70
a.3. Propiedades antioxidantes	71
a.4. Efecto sobre determinados microorganismos	71
a.5. Carcinogenicidad, mutagenicidad y antimutagenicidad	72
a.6. Reacción de Maillard “in vivo”	73
b) Aspectos nutritivos	73
b.1. Efecto sobre la ingesta y el peso	74
b.2. Efecto sobre las proteínas y aminoácidos	75
b.3. Efecto sobre los carbohidratos	78
b.4. Efecto sobre las vitaminas	79
b.5. Efecto sobre los minerales	79
i) Forma fisicoquímica: cambios en la “especiación”	81
ii) Aspectos biológicos	82
ii.1. Influencia sobre la digestibilidad mineral	83
ii.2. Consecuencias sobre el metabolismo mineral	84

I. Efecto de la reacción de Maillard sobre la biodisponibilidad del calcio	84
i) Forma fisicoquímica: cambios en la “especiación”	84
ii) Aspectos biológicos	85
ii.1. Influencia sobre la digestibilidad	86
ii.2. Consecuencias sobre el metabolismo	88
II. Efecto de la reacción de Maillard sobre la biodisponibilidad del hierro	90
i) Forma fisicoquímica: cambios en la “especiación”	90
ii) Aspectos biológicos	92
ii.1. Influencia sobre la digestibilidad	92
ii.2. Consecuencias sobre el metabolismo	93
MATERIAL Y MÉTODOS	99
1. Ensayos in vivo	99
1.1. Sujetos	99
1.2. Dietas	100
1.3. Diseño experimental	107
1.4. Determinación de la ingesta de nutrientes	111
1.5. Recogida de muestras y estudios de balance	113
1.6. Evaluación antropométrica y de la composición corporal	115
2. Ensayos in vitro	117
2.1. Digestión in vitro	117
2.2. Ensayos con cultivos celulares	119
a) Células Caco-2	119
b) Ensayos de viabilidad celular	122
c) Ensayos de transporte de hierro y calcio	122
3. Determinaciones analíticas	126
3.1. Técnicas analíticas	126
3.2. Precisión y exactitud de los análisis	128
4. Tratamiento estadístico	129

RESULTADOS	133
<i>I. Ensayos in vivo</i>	133
1. Sujetos	133
1.1. Antropometría	133
1.2. Hábitos de vida de los adolescentes	134
2. Dietas, alimentos e ingesta de nutrientes	136
2.1. Medida del grado de desarrollo de la reacción de Maillard en las dietas experimentales	136
2.2. Composición de energía y nutrientes de los distintos platos	136
2.3. Frecuencia de consumo de alimentos	140
2.4. Ingesta de energía y macronutrientes	143
2.5. Ingesta de micronutrientes	145
3. Calcio	147
3.1. Fuentes de calcio	147
3.2. Parámetros bioquímicos y del metabolismo óseo	151
3.3. Balance de calcio	152
3.4. Correlaciones entre los parámetros controlados en el estudio de la utilización del calcio	159
4. Hierro	163
4.1. Fuentes de hierro	163
4.2. Parámetros hematológicos y bioquímicos	165
4.3. Balance de hierro	167
4.4. Correlaciones entre los parámetros controlados en el estudio de la utilización del hierro	175
<i>II. Ensayos in vitro</i>	179
1. Ensayos de solubilidad	179
2. Ensayos de transporte en célulasCaco-2	180

DISCUSIÓN	185
1. Dietas y alimentos consumidos. Ingesta de energía y macronutrientes	185
1.1. Dieta habitual de los adolescentes que realizaron el estudio	185
1.2. Dietas experimentales: blanca y marrón	191
1.3. Indicadores de la reacción de Maillard	193
1.4. Consumo de las dietas blanca y marrón. Ingesta de nutrientes	195
2. Calcio	198
2.1. Contribución de los distintos grupos de alimentos al aporte diario de calcio en la dieta	198
2.2. Balance de calcio	201
a) Ingesta de calcio	201
b) Utilización digestiva	204
b.1. Excreción fecal	204
b.2. Absorción y digestibilidad	205
b.3. Influencia del consumo de dietas ricas en productos pardos	209
c) Utilización metabólica	212
c.1. Calcio urinario y marcadores óseos	212
c.2. Retención	217
c.3. Influencia del consumo de dietas ricas en productos pardos	221
3. Hierro	227
3.1. Contribución de los distintos grupos de alimentos al aporte diario de hierro en la dieta	227
3.2. Balance de hierro	230
a) Ingesta de calcio	230
b) Utilización digestiva	233
b.1. Excreción fecal	233
b.2. Absorción y digestibilidad	233
b.3. Influencia del consumo de dietas ricas en productos pardos	242
c) Utilización metabólica	247
c.1. Hierro en la orina	247

c.2. Retención. Parámetros sanguíneos	248
c.3. Influencia del consumo de dietas ricas en productos pardos	254
RESUMEN Y CONCLUSIONES	259
BIBLIOGRAFÍA	265

Listado de abreviaturas

- % A/I: Utilización digestiva o digestibilidad del elemento ingerido. Porcentaje absorbido del ingerido.
- % R/I: Eficacia de utilización del elemento ingerido. Porcentaje retenido del ingerido.
- 1,25(OH)₂D₃: 1,25-dihidroxicolecalciferol.
- 25(OH)D₃: 25-Hidroxicolecalciferol.
- A: Absorción.
- AGE: Advanced Glycosylation End-products (Productos de glicosilación avanzada).
- AGI: Ácidos grasos insaturados.
- AGMI: Ácidos grasos monoinsaturados.
- AGPI: Ácidos grasos poliinsaturados
- AGS: Ácidos grasos saturados.
- BCR: Community Bureau of Reference. Patrones externos de referencia.
- CB: Cámara Basolateral.
- CML: Carboximetilisina.
- Cr: Creatinina.
- DB: Dieta Blanca.
- DG: Densidad Grasa.
- DH: Dieta Habitual.
- DM: Dieta Marrón.
- DMEM: Dulbecco's Modified Minimal Essential Médium, medio esencial mínimo de Dulbecco.
- DPD: Desoxipiridinolina.
- EAA: Espectrofotometría de Absorción Atómica.
- EB: Etapa Blanca.
- EM: Etapa Marrón.

- F: Fecal.
- G: Global.
- GCT: Grasa Corporal Total.
- HBSS: Hank's Balanced Salt Solution.
- HMF: Hidroximetilfurfural.
- I: Ingesta.
- IGF-I: Factor de crecimiento similar a la insulina.
- IMC: Índice de masa corporal.
- IR: Ingesta Recomendada.
- L: Período de limpieza.
- MRM: Marcadores de la Reacción de Maillard.
- NS: No significativo.
- PA: Fosfatasa Alcalina.
- PB: Pliegue Bicipital.
- PC: Porción Comestible.
- PG: Porcentaje Graso.
- PRM: Productos de la reacción de Maillard.
- PSE: Pliegue Subescapular.
- PSI: Pliegue Suprailíaco.
- PT: Pliegue Tricipital.
- PTH: Hormona Paratiroidea.
- R: Retención corporal o balance aparente.
- RDA: Recommendation Dietary Allowance.
- SC: Superficie corporal
- T₀: Toma 0, al final de la DH.
- T₁: Toma 1, al final de la EB.
- T₂: Toma 2, al final de la EM.
- TEER: Resistencia Eléctrica Transepitelial.
- ΔPeso: Incremento de peso.
- ΔTalla: Incremento de talla.

Introducción y Objetivos

Introducción y Objetivos

La adolescencia es un período de cambios acelerados en la que se lleva a cabo un intenso crecimiento y desarrollo, que requiere aportes adecuados de energía y nutrientes. De ahí que la dieta deba satisfacer a plenitud sus requerimientos, que en algunos nutrientes resultan superiores a los de cualquier etapa de la vida.

En esta época el adolescente adquiere entre el 15-25% de su talla adulta, lo que implica grandes demandas de calcio, constituyente esencial del hueso. Igualmente, el crecimiento muscular y la elevación del volumen sanguíneo hacen que se incrementen las necesidades de hierro.

Sin embargo, ante esta situación que exige una nutrición óptima, la conducta alimentaria actual de los adolescentes no parece muy positiva. En los últimos 50 años los hábitos alimentarios de nuestra población han ido cambiando (Varela y col., 1995). Nuestra dieta se ha ido acercando a la Occidental típica y algunas de sus buenas características, propias de la dieta Mediterránea, se han atenuado, especialmente entre los más jóvenes (Tur y col., 2004). La elaboración tradicional de las comidas está siendo parcialmente sustituida por la compra de alimentos procesados o precocinados que rápidamente puedan ser cocinados o recalentados en el microondas; la tendencia a comer fuera de casa se incrementa y los restaurantes de comidas rápidas proliferan. La mayor parte de los jóvenes y adolescentes a menudo toman este tipo de comidas y, a la vez, el “picoteo”, frecuentemente asociado a las horas de televisión y videojuegos, ha elevado también el consumo de *snacks*, suponiendo ambos una fracción importante de la ingesta energética.

Aunque, como indica Amorim (2000), el consumo de *snacks* y comidas rápidas es menos frecuente en los países Mediterráneos que en los del norte de Europa o en USA, el mismo autor señala que la dieta de nuestros adolescentes ha

perdido algunos de los principales valores de la dieta Mediterránea, debido, en gran parte, a la proliferación de estos alimentos.

Por lo tanto, las tendencias actuales de consumo suponen unos parámetros dietéticos de menor calidad nutritiva, en los que priman alimentos ricos en energía pero con baja densidad de nutrientes y, frecuentemente, muy procesados: hamburguesas, pizzas, fritos, distintos *snacks*, bollería, pasteles, chocolates, bebidas dulces carbonatadas (colas), etc.

La preparación culinaria de muchos de estos alimentos implica el empleo de fritura, asado a la plancha, horneado, etc. y, a veces, el recalentamiento. Tales procesos, en unos alimentos que suelen combinar proteína con azúcares y/o grasa, hacen posible el desarrollo de la reacción de Maillard y la aparición de los denominados productos de la reacción de Maillard (PRM), originarios de colores, aromas y sabores agradables para el consumidor (Ames, 1998), lo que constituye uno de los aspectos positivos de la reacción. Junto a éstos, la reacción de Maillard conlleva también consecuencias mucho menos beneficiosas, como las que repercuten sobre el aprovechamiento de los nutrientes: proteína y minerales, fundamentalmente. Prácticamente no existen datos a este respecto en humanos, pero los resultados en animales señalan interferencias de los PRM en la digestibilidad y/o metabolismo de diversos minerales, con resultados controvertidos en lo que se refiere al calcio y al hierro.

La aparición de estos productos es inevitable, ya que la mayoría de los alimentos han de procesarse, e, incluso, buscada para conseguir aromas y sabores característicos, por tanto, conviene conocer las consecuencias nutritivas y fisiológicas derivadas de su consumo. Se trata de conseguir el equilibrio entre beneficio-perjuicio y de sentar las oportunas directrices que mejor conjuguen tratamiento-alimentación-salud.

Parece claro que los PRM son consustanciales incluso con nuestra dieta más tradicional (Förster y col., 2005), a la que, sin duda, reportan aspectos favorables, pero también desfavorables. El problema podría plantearse si los hábitos alimentarios se inclinan demasiado hacia el consumo de alimentos sobreprocesados con dosis más o menos grandes de recalentamiento. En este sentido, Vlassara (1996) indica que en los últimos 50 años los productos de

glicación avanzada han incrementado notablemente en la dieta Occidental típica, especialmente entre los adolescentes, en relación con los cambios en los patrones alimentarios ya comentados.

A la vista de las tendencias en las pautas alimentarias actuales de los adolescentes y conociendo que el resto de la dieta en la que se incluyen los PRM puede condicionar la biodisponibilidad mineral, nos pareció interesante estudiar la utilización del calcio y el hierro en la dieta que habitualmente consumen, y ver si una dieta más ajustada a sus necesidades y basada en los patrones de la dieta Mediterránea, podía modificarla.

Además, se intentó averiguar si el mayor o menor consumo de PRM, consecuente del empleo de distintos tratamientos alimentarios, incidía sobre la digestibilidad o metabolismo de dichos nutrientes y afectaba su estatus nutritivo.

Revisión Bibliográfica

Revisión Bibliográfica

1. DEFINICIÓN Y CARACTERÍSTICAS DE LA ADOLESCENCIA

La palabra *Adolescencia* deriva del término latino “adolescere”, que significa crecimiento y se define como el período de tiempo comprendido entre la infancia y la edad adulta, extendiéndose desde la aparición de los primeros signos de la pubertad, con los caracteres sexuales secundarios, hasta que cesa el crecimiento somático y el individuo alcanza su madurez psicológica.

En la actualidad, tras la llamada “declaración de Santiago sobre atención al adolescente” (1999), derivada del XI Encuentro del Comité de Adolescencia de ALAPE (Asociación Latino Americana de Pediatría) de la Sociedad Española de Medicina del Adolescente, se fija para la adolescencia el período de edad comprendido entre los 10 y 19 años de edad, según los criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización Panamericana de la Salud (OPS). Los límites del período deben establecerse de forma flexible, ya que hay evidencia de comienzo puberal antes de esa edad y problemas que se resuelven después de los 20 años.

Dentro del período de edad total que comprende la adolescencia, se distinguen tres etapas en virtud de las características biopsicosociales de los adolescentes: la adolescencia precoz (10-13 años), la adolescencia intermedia (13-15 años) y la adolescencia tardía (15-19 años).

La adolescencia y la pubertad, proceso de maduración del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas, implican el crecimiento y desarrollo de los órganos genitales y una serie de cambios que conducen a la capacidad de reproducción y a la vida adulta. Se producen cambios fisiológicos con manifestaciones morfológicas y funcionales, y cambios psicológicos, conduciendo a la expresión completa del dimorfismo sexual y a la instauración de nuevas formas de comportamiento.

▪ **Cambios fisiológicos**

Se trata de un período de cambio acelerado que se manifiesta en el crecimiento y la maduración somática, con gran desarrollo de los órganos corporales. Las características fisiológicas que identifican la adolescencia se deben a la secreción de hormonas sexuales masculinas y femeninas, al hacerse funcionales testículos y ovarios. También son claves la hormona del crecimiento y el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-I). El incremento de la síntesis y secreción de estas hormonas se traduce en cambios importantes, entre los que destacan:

- Aceleración del crecimiento longitudinal (se adquiere el 25% de la estatura).
- Modificación de las relaciones segmentarias y de la composición de los tejidos: aumenta un 50% la masa esquelética, se adquiere el 50% del peso definitivo, aumentan el volumen sanguíneo (33%) y la proporción de grasa, se modifica la distribución muscular, se desarrollan el sistema respiratorio, circulatorio, las gónadas y otros órganos, aparecen los caracteres sexuales secundarios y se logra la plena madurez física.

La aceleración brusca de la velocidad de crecimiento o estirón puberal, cada vez más precoz, posiblemente por la influencia de los factores ambientales y la mejora de la nutrición, muestra diferencias en ambos sexos, tanto en su cronología como en su intensidad. En las chicas es un acontecimiento más precoz, iniciándose casi al mismo tiempo que la aparición de los caracteres sexuales secundarios. La mayoría de ellas comienzan el crecimiento puberal entre los 10 y los 14 años y lo finalizan hacia los 15 años. En los varones el agrandamiento testicular precede a la aparición de los caracteres sexuales secundarios, que representan una respuesta somática a la actividad gonadal que se está desarrollando y que Tanner, para ambos sexos, ha clasificado en 5 estadios que van desde el período prepuberal hasta el de adulto (Tanner y Whitehouse, 1976). Los chicos presentan el brote puberal entre los 12 y los 17 años, finalizando la pubertad hacia los 18 años, por lo que en ellos, generalmente, el brote de crecimiento máximo ocurre a la edad en que las mujeres ya están experimentando la desaceleración. En adolescentes varones sanos de raza blanca el pico máximo para las velocidades en talla y peso suele ocurrir a los 13-14 años,

mientras que en las chicas se produce a los 11-12 años (Tanner y Whitehouse, 1976; Tanner y Davies, 1985). El mayor aumento de peso en los chicos es simultáneo al brote de crecimiento muscular y de talla, mientras que en las chicas primero ocurre el brote máximo de talla, luego el correspondiente brote máximo de peso y finalmente el mayor aumento de la velocidad de crecimiento en relación a la masa muscular (Lloyd y col., 1998). En los chicos aumentan de manera importante los tejidos no grasos, el esqueleto y el músculo, mientras que en las chicas, coincidiendo con su maduración sexual, se acumula más grasa. El crecimiento en el adolescente durante el estirón puberal presenta valores máximos de 9,5 cm/año a los 14 años en los chicos y 8,5 cm/año a los 12 años en las chicas (Buckler, 1979). Durante la pubertad pueden observarse diferencias entre los sexos en la masa ósea debido a la existencia de un período más prolongado de maduración ósea en los varones que en las mujeres, con mayor aumento del tamaño del hueso y del grosor de la cortical. Al final de la pubertad se alcanza el pico de máxima densidad ósea, por lo que la ganancia de masa de los huesos durante el período de la adolescencia puede ser más importante que el crecimiento de la estatura. Todos los factores que determinen la deposición ósea durante estos años serán decisivos para la correcta formación del hueso, destacando la ingesta de calcio y vitamina D y la actividad física.

- **Cambios psicológicos**

La adolescencia es, sin duda, un período difícil de la vida, tanto para el propio adolescente como para su entorno. En ella, junto a los cambios fisiológicos citados, se producen cambios psicológicos que llevan a la modificación de la conducta emocional y social. Los adolescentes son entusiastas e idealistas, pero a la vez tienen conductas impulsivas y egocéntricas que pueden determinar consecuencias negativas para su salud y sus relaciones sociales (Galdó, 1999).

Son característicos los grandes cambios físicos producidos en este período, que junto con la inseguridad propia del adolescente, los conduce, frecuentemente, a una gran valoración de su imagen corporal. En el campo psicosocial, los amigos ejercen una gran influencia sobre el adolescente y hay una tendencia a la imitación de conductas dentro del grupo. Todo esto lleva asociado rechazo a los patrones familiares, incluidos los patrones dietéticos.

1.1. La nutrición en la adolescencia

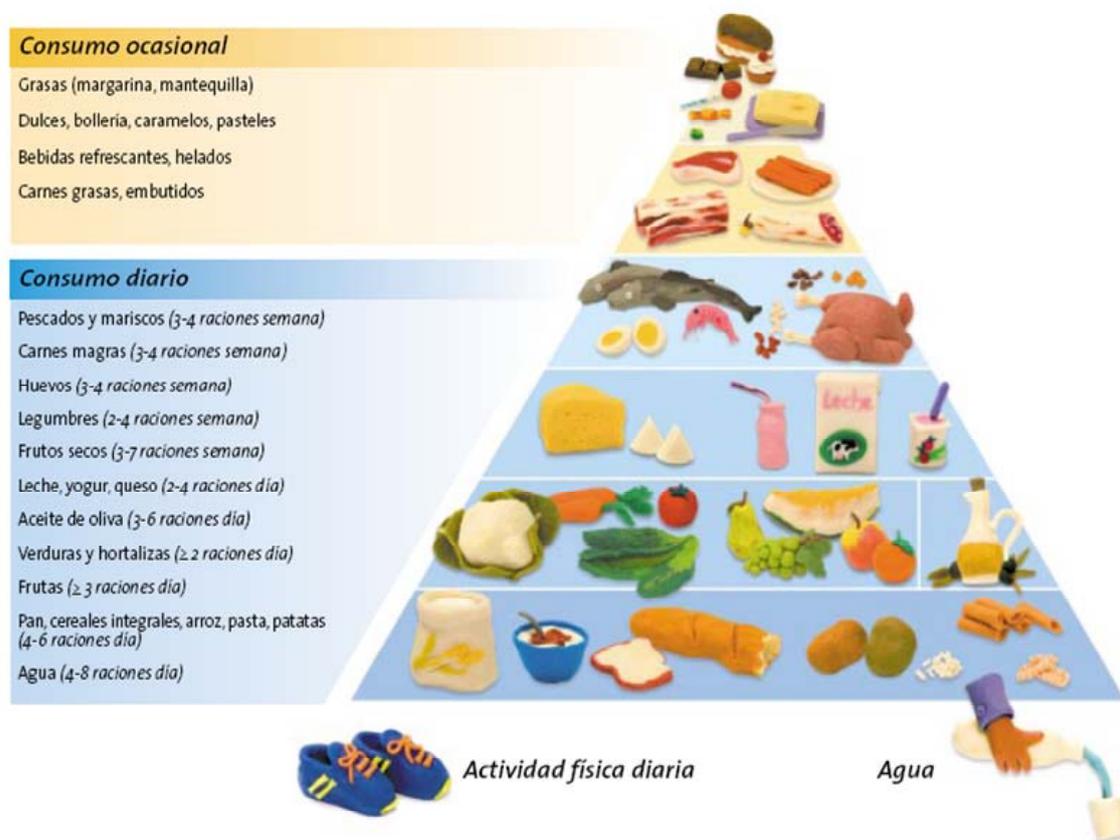
El crecimiento y el desarrollo del adolescente requieren una adecuada nutrición y, por tanto, el aporte suficiente de energía y nutrientes juega un papel crítico. Los tres hechos que tienen una influencia directa sobre el equilibrio nutritivo son la aceleración del crecimiento en longitud y el aumento de la masa corporal o estirón puberal, la modificación de la composición del organismo y las variaciones individuales en la actividad física y en el comienzo de los cambios puberales (Hernández, 2001).

El importante incremento de peso, que se duplica durante el brote de crecimiento puberal, lleva aparejada una elevación de las necesidades energéticas, proteicas y de micronutrientes que, en algunos casos, suponen los requerimientos máximos de toda la vida, o lo que es lo mismo, en ninguna otra etapa se van a tener unas necesidades tan elevadas de ciertos nutrientes (WHO (World Health Organisation), 1985). Este exagerado anabolismo hace al adolescente muy sensible a las restricciones calóricas y a las carencias en proteínas y oligoelementos. El rápido crecimiento del esqueleto, así como la mayor síntesis de tejido tisular, aumentan la demanda de nutrientes durante este período (Forbes, 1994; Story, 1994). La adecuada alimentación en esta época de la vida debe tener como objetivo lograr que el aporte de nutrientes sea suficiente para promocionar el crecimiento y desarrollo normal (Ballabriga y Carrascosa, 2006).

Otra particularidad de la nutrición en este período es la diferenciación entre sexos, debida a la diferente cantidad y composición del tejido sintetizado. Los varones ganan peso en mayor proporción y lo hacen a expensas, sobre todo, del aumento de la masa magra, mientras que disminuye el tejido adiposo. En las chicas ocurre de manera diferente, incrementa progresivamente la cantidad de grasa y a los 20 años tienen, aproximadamente, el doble de tejido adiposo y solamente el 66% del tejido no graso de los chicos. Según datos de Forbes (1981), entre los 10 y los 20 años de edad, el varón aumenta su masa corporal libre de grasa de 27 a 63 kg (es decir, 36 kg), mientras que el aumento de las chicas durante el mismo período es aproximadamente la mitad, de 25 a 43 kg (18 kg). Los tejidos libres de grasa representan la parte metabólicamente activa y

algunos nutrientes como el nitrógeno, el calcio o el hierro se encuentran sobre todo en la porción no grasa del organismo, por lo que la diferencia en la composición corporal entre los sexos tiene una importante repercusión sobre los requerimientos nutricionales, mayores en los varones (Forbes, 1981).

Figura 1.- **Adaptación para la adolescencia de la Pirámide de Alimentación Saludable de la SENC (Sociedad Española de Nutrición Comunitaria)**



El mantenimiento de situaciones de malnutrición en el período de la adolescencia puede conducir a un retraso permanente en la talla para una determinada edad. Una nutrición subóptima retrasa el crecimiento y la pubertad, bajando los índices de masa magra y grasa, mientras que una nutrición adecuada influirá sobre ambos índices de forma positiva.

Los adolescentes deben conocer los riesgos asociados a un consumo inadecuado de alimentos ya que, como se ha mencionado, los requerimientos en

esta edad son mayores que en los adultos. El aporte equilibrado de nutrientes es imprescindible para la transmisión del impulso nervioso (Buzina y col., 1989) y asegura que los procesos fisiológicos, que son la base de la atención, memoria, inteligencia, conducta psíquica y actitud social del individuo, se realicen correctamente (Lovenberg, 1986; Williamson, 1987).

En la adolescencia es importante consumir una dieta variada, rica en frutas y verduras y con menor consumo de productos grasos (Hampfl y col., 1999; Nicklas y col., 2000). Las recomendaciones para una alimentación saludable durante la adolescencia se representan en la Figura 1.

1.2. Necesidades nutricionales del adolescente

Las necesidades nutricionales difieren según el sexo o el grado de madurez del individuo. Debido a la gran variabilidad en la edad de aparición y duración de los cambios puberales, dichas necesidades se correlacionan con la edad biológica y no con la edad cronológica (Nacional Research Council, 1989; Bueno-Lozano y col., 1999). La tendencia a calcular las necesidades teniendo en cuenta únicamente la edad, puede causar errores por exceso que pueden conducir a sobrepeso por acúmulo de grasa y al crecimiento excesivo de algunos tejidos no grasos, especialmente en los adolescentes que maduran lentamente. Por eso se recomienda usar la edad biológica, la cual puede determinarse con los cambios en la maduración sexual, maduración ósea y marcadores bioquímicos (fosfatasa alcalina y excreción de hidroxiprolina, principalmente) (Hernández Rodríguez, 1993).

Energía: Las necesidades energéticas son elevadas durante la adolescencia, ya que están muy relacionadas con la velocidad de crecimiento y con la actividad física. Las diferencias morfológicas entre los sexos, ya evidentes al comienzo de la pubertad, se acentúan a lo largo de la adolescencia. Hasta los 11 años las recomendaciones para ambos sexos son similares, sin embargo, la ingesta de energía recomendada muestra una diferencia de 300 kcal/día para chicos y chicas de 11-14 años, y de 800 kcal/día los de 15-18 años (Nacional Research Council, 1989). Cuando se produce una restricción energética puede sufrirse un retraso en el crecimiento y maduración corporal, recuperable dependiendo del grado de

carencia y del tiempo que haya durado la deficiencia. Debido a las amplias variaciones individuales, Gong y Heald (1994) recomiendan que las necesidades de energía y proteínas de los adolescentes se expresen por unidad de talla y no por peso o edad cronológica. Así, las recomendaciones de energía representan aproximadamente unas 13 kcal/cm para las chicas y unas 16 kcal/cm para los chicos. Cada 500 g de aumento muscular requiere un balance energético positivo de 255 a 300 kcal.

Proteínas: El aporte de proteínas se eleva debido al rápido crecimiento durante el estirón puberal, destinándose a la síntesis de nuevos tejidos y estructuras orgánicas. Para conseguir una dieta equilibrada, en torno al 15% de las calorías deben proceder de las proteínas, siendo importante que éstas sean de buena calidad. Por cada centímetro de talla las necesidades proteicas serán de 0,29-0,32 g en los chicos y de 0,27-0,29 g en las chicas (Tojo y col., 1991). Como cifras medias se aconsejan 45 y 59 g/día para chicos de 11-14 y 15-18 años respectivamente, siendo estas cifras de 46 y 44 g/día en el caso de las chicas (National Research Council, 1989). Como límite máximo permitido se recomienda no superar el doble de las recomendaciones. Sin embargo, últimamente algunos investigadores han cuestionado la ingesta óptima de proteína en adolescentes, y han sugerido que este nivel debería ser superior a las actuales recomendaciones (Millward, 1999). Además, si consideramos que el 15% de las calorías consumidas deben proceder de las proteínas y dadas las recomendaciones energéticas para los adolescentes según las RDA (Nacional Research Council, 1989), los varones deberían consumir entre 93-112 g/día de proteínas y las chicas alrededor de 82 g/día.

Lípidos: Una dieta saludable debe aportar entre el 30 y el 35% de calorías en forma de grasa. Los lípidos en general suponen una fuente importante de energía, contribuyendo además al sabor de los alimentos. Son el vehículo de las vitaminas liposolubles, cumplen funciones estructurales en las membranas celulares y órganos intracelulares, sirviendo como protección y aislamiento térmico y forman parte de sistemas enzimáticos importantes.

Hidratos de carbono: Deben constituir el 50-55% de las calorías de la dieta, y ser preferiblemente de tipo complejo. Los no refinados proporcionarán un 45-

50% de la energía total y los azúcares refinados un 5-10%. Son fundamentales desde el punto de vista metabólico, participando en determinadas reacciones y funciones vitales. En los alimentos están presentes en forma de mono, di y polisacáridos.

Vitaminas: Cuando el consumo energético de los adolescentes está por debajo de 2000 kcal/día, las necesidades de vitaminas y minerales no cubren las recomendaciones. Esta situación se presenta frecuentemente en la adolescencia, especialmente cuando existen regímenes de reducción de peso corporal. Algunas vitaminas hidrosolubles juegan un papel importante en el metabolismo energético, por lo que las recomendaciones de su ingesta están relacionadas con el consumo calórico. De las vitaminas liposolubles destaca el aumento en las necesidades de A y D, importantes en los períodos de crecimiento acelerado.

Minerales: El aporte suficiente y equilibrado de minerales en la dieta es fundamental para el funcionamiento de sistemas enzimáticos y para la expansión de los tejidos metabólicamente activos propia de la adolescencia. Dos de los minerales que presentan especial importancia en los adolescentes son el calcio y el hierro.

Estas mayores necesidades de nutrientes específicos requieren dietas equilibradas y saludables que los aporten satisfactoriamente, sin embargo, las dietas de los adolescentes se alejan frecuentemente de estos patrones saludables, conduciendo a pobres hábitos alimentarios, como se indicará posteriormente.

2. CALCIO

2.1. Aspectos generales

El calcio es el mineral más abundante en el organismo, representando el 1-2% del peso total del cuerpo. La mayor parte del calcio corporal se localiza en el tejido óseo y en los dientes (99%), donde se encuentra fundamentalmente en forma de sales, mayormente como hidroxapatito. El 1% restante se encuentra en sangre, líquido extracelular, músculo y otros tejidos en los que, unido a fosfolípidos y proteínas, forma parte de las membranas celulares. El calcio sérico existe en tres fracciones: de forma ionizada (50%), unido a proteínas (40%), o formando complejos, principalmente con iones citratos o fosfatos (American Academy of Pediatrics, 2001), y su concentración está regulada esencialmente por la acción conjunta de tres hormonas: hormona paratiroidea (PTH), 1,25-dihidroxicolecalciferol ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) y calcitonina, como se explicará posteriormente.

La función principal del calcio en el organismo es de tipo estructural, formando y manteniendo los huesos y dientes, pero además es esencial en numerosos procesos metabólicos que ocurren en las células, por lo que es necesario para el óptimo crecimiento y desarrollo. Se considera mensajero intracelular, participa en la conducción nerviosa, la contracción muscular, movimientos y adhesiones celulares, secreciones glandulares, procesos de división celular, etc. Así mismo, el calcio es cofactor de diversas enzimas y factores de coagulación.

El calcio de la dieta, la vitamina D y los productos lácteos pueden tener un papel importante sobre la modulación de la obesidad, el metabolismo energético y la resistencia a la insulina, de forma que el peso y el porcentaje de grasa corporal están negativamente relacionados con la ingesta de calcio de la dieta en individuos de todas las edades (Skinner y col., 2003; Novotny y col., 2004).

Existe un equilibrio dinámico entre el calcio disuelto en el medio extracelular y parte del encontrado en el hueso, así, el hueso puede actuar como reservorio de calcio y cederlo si la concentración en la sangre disminuye por debajo del rango de la normalidad (9,0-10,2 mg/dl), de tal forma que unos 500 mg de este mineral

entran y salen de los huesos diariamente (Pérez Llamas y col., 2005). Si se produce una deficiencia crónica del elemento por una ingesta inadecuada continua o pobre absorción intestinal de calcio, la concentración del elemento circulante se mantiene a expensas de la masa esquelética. El efecto acumulativo de la depleción del esqueleto durante varios años contribuye al aumento en la frecuencia de fracturas óseas y osteoporosis con la edad (Flynn y Cashman, 1999).

2.2. Fuentes y requerimientos

Los alimentos que aportan calcio son en primer lugar la leche y los derivados lácteos, contribuyendo hasta en un 70% del ingreso total del mineral en la dieta de los países occidentales (Guéguen y Pointillart, 2000) y en más del 65% en la población adulta española (Orozco López y col., 2004). El calcio procedente de los productos lácteos es menos sensible a factores externos modificadores de la absorción, excepto a inhibidores como el ácido oxálico, por lo que su disponibilidad es de las más altas. Su contenido en lactosa, proteínas y fosfopéptidos contribuye a promover la absorción del mineral (Guéguen y Pointillart, 2000). Otros alimentos que llevan incorporados queso o leche, como el chocolate o las pizzas, también pueden contribuir de forma importante al aporte de calcio en la dieta. El consumo de leche y derivados lácteos, además de mejorar la absorción del calcio, conlleva una ingesta simultánea de fósforo, esencial para la deposición ósea. Esto supone una ventaja frente al consumo de otras fuentes de calcio, tales como suplementos o agua mineral (Heaney, 1996).

Los cereales, que pueden aportar hasta un 22% del calcio total diario, y las leguminosas, contienen importantes cantidades de calcio, aunque su disponibilidad puede ser baja debido a la presencia de compuestos como fitatos y oxalatos, que contribuyen de forma negativa a la disponibilidad del elemento. En el caso de las leguminosas, su contenido en isoflavonas, que mejoran la fijación del calcio al hueso, puede contrarrestar este efecto negativo (Messina, 1999).

Otras fuentes alimentarias son las hojas de vegetales verdes, cuyo contenido en calcio presenta elevada disponibilidad del mineral excepto en algunos como

las espinacas, donde los oxalatos disminuyen la cantidad de calcio disponible (Committee on Nutrition, 1999).

Las carnes y el pescado aportan sólo pequeñas cantidades del mineral.

El consumo de frutas y verduras y su aporte de potasio tienen un efecto beneficioso sobre la salud ósea en niños, adultos y ancianos (Tucker y col., 2001; McGartland y col., 2004). El metabolismo de las dietas típicas de países occidentales, ricas en productos cárnicos, produce grandes cantidades de ácido, indicado por los niveles de bicarbonato y por el pH de la sangre (Morris y col., 2001). El tejido óseo es una fuente rica de bases (calcio, carbonato, citrato, magnesio y potasio), por lo que, en ausencia de suficientes bases aportadas con la dieta, los cristales óseos son disueltos para neutralizar la acidez y defender al sistema de desórdenes ácido-base (Green y Kleeman, 1991). Las frutas y las verduras proporcionan una fuente natural de bases capaces de tamponar la acidez producida por otros componentes de la dieta, por lo que su consumo tendrá un efecto preventivo sobre la resorción ósea (Lin y col., 2003).

El agua, además, puede proporcionar hasta un 6-7% del calcio ingerido diariamente (Guéguen y Pointillart, 2000).

El calcio es uno de los minerales que mayores requerimientos presenta (800-1000 mg/día para la población infantil y adulta). Las cantidades recomendadas varían con la edad y son distintas según el país, siendo siempre máximas durante la adolescencia, que es cuando se produce el máximo pico de crecimiento. Durante el embarazo y la lactancia se requieren cantidades extra de 600 y 700 mg/día respectivamente (Moreiras y col., 2004).

2.3. Absorción, transporte y eliminación

La absorción del calcio es el resultado de dos procesos: un transporte paracelular o difusión pasiva, y un transporte transcelular o transporte activo.

- El *transporte paracelular* de calcio ocurre entre las células del epitelio intestinal, donde la cantidad de calcio transportado depende de la concentración de calcio luminal, es decir, a mayor cantidad de calcio luminal, mayor transporte paracelular. Esta difusión pasiva no es saturable, se ve favorecida con la ingesta

dietética y, según algunos autores, es independiente de la edad y de la vitamina D (Bellaton y col., 1992; Bronner, 1992). Karbach (1992), sin embargo, mostró que la vitamina D podía potenciar el transporte paracelular de calcio a nivel de duodeno e ileon, mientras que no lo hacía a nivel de yeyuno. Todos los compuestos de la dieta que aumentan la solubilidad del calcio dentro de estos segmentos, estimulan la difusión pasiva, particularmente las proteínas de la leche, los fosfopéptidos derivados de la caseína (Lee y col., 1983) y aminoácidos como la L-lisina y L-arginina, que forman quelatos solubles con el calcio (Bronner, 1987).

- La *difusión transcelular o transporte activo* se produce a través de las células del intestino. Es un transporte saturable y está regulado por la edad y las necesidades del organismo, requiriendo la presencia de vitamina D así como de proteínas transportadoras y el consecuente gasto de energía (Aranda y Llopis, 1993; Guéguen y Pointillart, 2000). Puede dividirse en tres etapas: entrada a través de la membrana del borde en cepillo, movimiento a través del espacio intracelular y salida de la célula a través de la membrana basolateral. En este transporte participan principalmente dos proteínas: la calbindina, dependiente de la vitamina D y la calmodulina, independiente de dicha vitamina. Ambas proteínas pueden actuar tanto en la entrada del calcio a través del borde en cepillo como a nivel del movimiento intracelular, aunque la calmodulina está en menor cantidad en el interior de los enterocitos y tiene menor afinidad por el calcio que la calbindina. Esta diferencia de afinidad puede facilitar la transferencia del calcio desde la calmodulina hacia otros transportadores (Dexter, 1996).

- Otro mecanismo menos común de introducción del calcio en la célula es a través de una *pinocitosis*, donde el elemento difunde por la membrana plasmática hasta el espacio extracelular a través de vesículas de transporte (Dexter, 1996).

La capacidad de absorción puede oscilar entre el 25-75% del calcio de la dieta, dependiendo de la edad del individuo, estadio biológico, reservas minerales, cantidad y tipo de calcio ingerido y presencia de factores dietéticos y hormonales que la facilitan o la dificultan. El calcio debe estar en forma soluble, generalmente en forma ionizada (Ca^{2+}), o unido a moléculas orgánicas solubles para ser absorbido a nivel intestinal, mientras que si está formando jabones

insolubles unido a grasas, o formando complejos unido a fitatos, la absorción estará disminuida.

a) Factores que afectan a la absorción

Entre los factores dietéticos que condicionan la absorción del calcio, destacan:

- **Proteínas:** estudios en animales y en humanos demuestran que la caseína puede mejorar la difusión pasiva del calcio (Hansen y col., 1997; Erba y col., 2002), como ocurre en la digestión intestinal de las caseínas de la leche (Berrocal y col., 1989), sin embargo, también se ha sugerido que si la ingesta cálcica es alta, la absorción parece no verse afectada por la proteína (Kerstetter y col., 1998). Durante la digestión de la caseína se forman caseinfosfopéptidos que se unen al calcio en solución previniéndolo de la formación de fosfatos insolubles y protegiéndolo de otros factores dietéticos que inhiben su absorción (Berrocal y col., 1989; Erba y col., 2001).

Como se mencionó anteriormente, algunos aminoácidos como la lisina y la arginina forman quelatos solubles con el calcio, facilitando igualmente su transporte a nivel intestinal. En general, las proteínas de la dieta pueden potenciar la absorción intestinal del calcio (Kerstetter y col., 1998), mientras que si la ingesta proteica es baja, puede producirse una disminución de la absorción (Kerstetter y col., 2002).

- **Vitamina D:** promueve la absorción intestinal del calcio y su resorción ósea, por lo que déficit en su ingesta o inadecuada exposición a la luz solar, reducen la absorción del mineral. Estimula el transporte activo del calcio a nivel de duodeno y en menor grado a nivel de ileon (Toverud y col., 1996) y es requerida para la acción efectiva de la PTH en el hueso e intestino. El metabolito 1,25-dihidroxicolecalciferol ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$), forma hormonal activa de la vitamina D, se une a receptores en las células del epitelio intestinal, incrementando la síntesis de proteínas de unión al calcio (calbindina), ATPasa dependiente de calcio y otras proteínas del borde en cepillo, potenciando con esto la eficacia de absorción intestinal del elemento. La síntesis de este metabolito es incrementada por la hipocalcemia, hipofosfatemia y PTH (Fraser, 1980) y disminuida por el uso de glucocorticoides (Colette y col., 1987).

Para la absorción de vitamina D y, consecuentemente, para la absorción de calcio, es necesaria una adecuada secreción de sales biliares (Bass y Chan, 2006). Además, las sales biliares por sí mismas tienen un efecto positivo sobre la absorción de este mineral, probablemente por solubilizarlo e inhibir la formación de jabones insolubles entre las grasas y el calcio (Halbert y Tsang, 1992).

- **Fitatos, oxalatos y taninos:** pueden formar complejos insolubles con el calcio y reducir su absorción. La fibra dietética, aunque por sí misma parece no tener ningún efecto significativo sobre la absorción de este mineral (NIH Consensus Conference, 1994) puede influir negativamente debido a su contenido en fitatos (Guégen y Pointillart, 2000). El calcio de las espinacas, presente en forma de oxalato insoluble, es un ejemplo de pobre disponibilidad (sólo se absorbe aproximadamente en un 5%) (Mataix Verdú y Llopis González, 2002; Cámara y col., 2005), así como el calcio de los cereales, donde la presencia de fitatos hacen al mineral menos disponible (Weaver y col., 1999).

- **Oligofructosa:** su adición a la dieta incrementa la absorción del calcio y de otros minerales, disminuyendo además los efectos negativos del ácido fítico sobre la absorción mineral. Esta acción puede ser explicada por el hecho de que estos compuestos no pueden ser degradados por las enzimas presentes en el intestino delgado, llegando prácticamente intactos al colon, donde son fermentados por la flora bacteriana con la consecuente producción de gases, lactosa y ácidos grasos. Los ácidos grasos de cadena corta son responsables de la mejor absorción mineral a través de un intercambio de H^+ intracelulares por Ca^{2+} en el colon distal (Trinidad y col., 1996). El resultado es un aumento de la absorción del calcio, demostrado en ratas (López y col., 2000) y en humanos (Coudray y col., 1997; Van den Heuvel y col., 1999).

- **Minerales:** existe una relación entre la absorción del calcio y del *fósforo*, de tal forma que para que ambos minerales se absorban adecuadamente deben estar aproximadamente en una proporción 1:1,2 a 1:1,4. Bajas o altas cantidades de fósforo en la dieta alteran la homeostasis del calcio, de forma que si se reduce la cantidad de fósforo ingerido y, por tanto, la cantidad absorbida, la absorción del calcio también se ve reducida, mientras que altas cantidades asociadas a proporciones Ca:P inferiores a 0,5 (1:2), también reducen la absorción del

mineral. Altos niveles de fósforo en la dieta se han asociado a aumentos en la excreción fecal de calcio así como a elevados niveles de PTH y de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ y, como consecuencia de todo esto, a pérdida de masa ósea y riesgo de fracturas osteoporóticas (Anderson y Garner, 1996).

El calcio, a su vez, puede modificar la absorción intestinal del *hierro* (Gleerup y col., 1995; Hallberg, 1998) y del *zinc* (Greger, 1988).

- **Lípidos:** la absorción del calcio es favorecida por una cierta cantidad de grasa, pero un exceso puede disminuirla, con mayor efecto cuando aumenta la saturación de la grasa. Los ácidos grasos, especialmente los saturados, forman jabones insolubles con el calcio a nivel intestinal, pudiendo transportar cantidades significativas de este mineral dentro de las heces (Jenkins y col., 1994). Sin embargo, aunque esto es posible, Allen (1982) afirma que no se produce interferencia de la grasa con la absorción del calcio. Los complejos insolubles son disociados al pH del estómago, pudiendo formarse de nuevo al alcanzar el ileon, fuera del área donde se produce principalmente la absorción del mineral, por tanto, únicamente se formarán complejos con el calcio que no es absorbido (Gueguén y Pointillart, 2000). Gunnes y Lehmann (1995) encontraron una asociación positiva entre la ingesta de grasas saturadas y la densidad ósea mineral en niños, posiblemente debido a una mayor ingesta de vitamina D. Kies (1988) considera que la biodisponibilidad del calcio se incrementa paralelamente a la disminución de la cadena del ácido graso y al aumento del grado de insaturación, así, una relación ácidos grasos insaturados/saturados elevada en la dieta parece tener efectos beneficiosos sobre la absorción de este elemento (Haag y col., 2003). Los complejos formados entre los triglicéridos de cadena media y el calcio potencian la absorción del mineral debido a la facilidad que tienen estos complejos para moverse a través del espacio paracelular (Sulkers y col., 1992).

- **Lactosa:** mejora la absorción por su capacidad de aceptar grupos fosfatos y ser fosforilada, reduciendo el efecto inhibitorio de estos grupos en el lumen intestinal (Fournier y col., 1975). La absorción del calcio puede duplicarse en presencia de lactosa, pero este efecto no es uniforme en todos los segmentos del intestino. En ratas, la lactosa potencia en gran medida la absorción en el ileon, mientras que en duodeno y yeyuno el aumento es menor (Lengemann y col.,

1959). En humanos, algunos estudios muestran un aumento en la absorción del calcio de la leche en niños (Miller, 1989), mientras que en adultos consumiendo sus dietas normales no parece influir significativamente (Griessen y col., 1986; Tremaine y col., 1986). El calcio del yogur, donde la lactosa está parcialmente hidrolizada, o del queso, que no contiene lactosa, es absorbido tan eficientemente como el de la leche (Weinsier y Krumdieck, 2000).

- **Compuestos con actividad quelante**, como los *productos de la reacción de Maillard*, son capaces de formar complejos con el calcio, afectando posiblemente a su disponibilidad (O'Brien y Walker, 1988), como se tratará posteriormente.

- **Energía**: la *restricción energética* también puede disminuir la eficacia de absorción de calcio (Cifuentes y col., 2002), y la *disminución de peso* induce pérdidas óseas e incrementa los requerimientos de este mineral (Jensen y col., 2001).

b) Eliminación

La excreción de calcio se lleva a cabo fundamentalmente por heces y en menor medida por orina, aunque también se producen pequeñas pérdidas con el sudor (alrededor de 15-35 mg/día en adultos y adolescentes) (Rianon y col., 2003), pelo y uñas. El calcio fecal procede de la parte no absorbida de la dieta y restos celulares de la mucosa, saliva, jugos digestivos y bilis. En general, los niveles de calcio urinario están correlacionados con los niveles de ingesta del mineral, viéndose también influenciados por determinados factores dietéticos y hormonales, entre los que se citan:

- **Proteínas**: se ha demostrado que la proteína dietética, particularmente la de origen animal, tiene un efecto positivo sobre la excreción urinaria de calcio (Barzel y Massey, 1998; Ginty, 2003). Esto ocurre especialmente en proteínas con un alto contenido en aminoácidos azufrados, como la cisteína o la metionina, donde la ruptura de los mismos libera grupos sulfatos que causan acidez e incrementan la excreción del calcio en la orina (Whiting y col., 1997; Remer, 2000). La calciuria, además de con la ingesta de calcio, está directamente relacionada con la acidez urinaria y no con la ingesta de proteína *per se* (Barzel y

Massey, 1998). Los iones sulfato también pueden unirse al calcio previniendo su reabsorción tubular (Kerstetter y Allen, 1994).

Matkovic y col. (1995) encontraron una asociación negativa entre la ingesta de proteínas y la excreción urinaria de calcio en chicas de 8-13 años, mientras que O'Brien y col. (1996) no encontraron esta asociación en chicas de 5-17 años. Por estas razones puede decirse que no está totalmente aclarado si la alta ingesta de proteínas tiene un impacto negativo sobre el balance de calcio y la mineralización ósea en niños y adolescentes (Hoppe y col., 2000).

- **Fósforo:** bajos niveles de fósforo (hipofosfatemia) han sido asociados con hipercalciuria (Weisinger y Bellorin-Font, 1998), producida como consecuencia de una disminución de la reabsorción renal del calcio. De forma contraria, altos niveles en la ingesta de fósforo se relacionan con un descenso en la excreción urinaria de calcio; la hiperfosfatemia probablemente causa una hipocalcemia transitoria, la cual estimula la secreción de PTH y resulta en una incrementada reabsorción de calcio en el túbulo distal (Wong y col., 1985).

- **Sodio:** la administración de sodio aumenta la excreción urinaria de calcio, probablemente debido a la competencia por la resorción a nivel del túbulo renal (Brunette y col., 1992), por tanto, dietas con un alto contenido en sal incrementarán los requerimientos de calcio en el individuo. Distintos estudios sugieren que cada 2 g de sodio en exceso consumido en la dieta incrementan la excreción urinaria de calcio en una media de 30 a 40 mg (Lemann y col., 1993; Matkovic y col., 1995).

Los factores dietéticos que afectan a la cantidad de calcio perdido en la orina tienen mayor influencia sobre el balance de calcio que aquéllos que influyen sobre su disponibilidad intestinal (Heaney, 1996). Cada factor puede relacionarse con la excreción urinaria del mineral, pero es el efecto metabólico de la dieta total el que determina cuánto calcio se excretará por la orina (Tylavsky y col., 2004). Un alto consumo de proteínas animales, sulfato, sodio, café o té, típico de las dietas de los países occidentales, estará asociado a mayores pérdidas de calcio en la orina.

Diversos estudios han mostrado que el consumo incrementado de frutas y verduras, en combinación con controlada ingesta de calcio, reduce la excreción

urinaria de este mineral, lo cual ha sido demostrado en chicas adolescentes (Tylavsky y col., 2004) y en adultos (Appel y col., 1997).

En los adultos normalmente existe un equilibrio entre la absorción intestinal neta y las pérdidas urinarias de calcio, permaneciendo constante el calcio extracelular e intercambiándose calcio extracelular y calcio óseo. Cuando la concentración de calcio sérico disminuye, los receptores sensibles al calcio en la glándula paratiroides detectan el cambio y estimulan la secreción de PTH. Ésta actúa sobre el hueso estimulando la resorción ósea para liberar calcio y sobre el riñón para reducir la excreción urinaria de dicho mineral e incrementar la producción de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ a través de la activación de la hidroxilasa renal encargada de transformar el $25(\text{OH})\text{D}_3$ en $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, metabolito que actúa sobre el intestino aumentando la absorción de calcio, y sobre el hueso mediando la formación de osteocalcina, proteína implicada en la formación ósea. Todo esto hace que los niveles plasmáticos de calcio se vean incrementados alcanzando sus valores normales. Concentraciones excesivas de este metabolito producen un incremento del número y de la actividad de los osteoclastos, que resultará en un aumento de la resorción ósea.

Incrementos en el calcio sérico son controlados por la calcitonina, secretada por la glándula tiroides (Cashman y Flynn, 1999; Prentice y col., 2003). Su acción biológica más reconocida es la inhibición de la resorción ósea, pudiendo actuar como antagonista de la PTH (Lobaugh, 1996).

Los estrógenos reducen la resorción ósea y, por tanto, el flujo de calcio desde el hueso hacia el plasma, por lo que disminuye la excreción urinaria del mineral. Niveles plasmáticos disminuidos de calcio estimulan la producción de PTH y $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, cuyos efectos mejorarán la absorción intestinal. Cuando existe deficiencia de estrógenos, el efecto producido será inverso al anterior. Los andrógenos tienen efectos sobre el hueso similares a los de los estrógenos, aunque su mecanismo de acción es menos conocido (Ontjes, 1996).

Otras hormonas también juegan un papel en el mantenimiento de la homeostasis del calcio, tales como corticosteroides, hormonas tiroideas, hormona del crecimiento, insulina y glucagón (NIH Consensus Conference, 1994).

La eficacia de incorporación del calcio al esqueleto está condicionada por factores fisiológicos, relacionados con el crecimiento, embarazo, lactancia y estados de deficiencia del mineral. Además, el ejercicio físico estimula el depósito de calcio en el hueso, mientras que el sedentarismo acelera la desmineralización de la masa ósea (NIH Consensus Conference). Es conocido que las personas encamadas de forma prolongada sufren una desmineralización de la masa ósea, posiblemente asociada a que la ausencia de gravedad se acompaña de elevadas pérdidas urinarias de calcio (Rico y col., 1991). Todo esto sugiere que el movimiento supone un importante estímulo de la osificación (Oria, 2003).

Los requerimientos varían a lo largo de la vida debido a cambios en el crecimiento y desarrollo del esqueleto (Nacional Research Council, 1989; Nordin, 1997) y cambios en la absorción y excreción relacionados con la edad.

2.4. Deficiencia de calcio

La carencia de calcio puede estar ocasionada por el insuficiente aporte dietético de este mineral, por la deficiencia de vitamina D o por factores que afecten negativamente su absorción intestinal. Dado que el hueso actúa como reservorio de calcio, es difícil que se produzca una situación de hipocalcemia, por tanto, el efecto de la carencia del mineral conlleva a una insuficiente mineralización de la matriz ósea, originando raquitismo en la etapa infantil y adolescente y, junto con otros factores de riesgo, contribuyendo a una posible osteoporosis en la edad adulta. La osteoporosis está definida como una enfermedad sistémica del esqueleto caracterizada por una baja masa ósea y deterioro del tejido óseo, con un consecuente aumento de la fragilidad del hueso y susceptibilidad a las fracturas (Prentice, 1997). La masa ósea en la edad adulta dependerá en gran medida del pico óseo alcanzado durante el crecimiento, por lo que el desarrollo de la máxima masa durante esta etapa y la reducción de pérdida del hueso en edades posteriores de la vida, son las dos principales estrategias para la prevención de la osteoporosis (Weaver, 2000).

Ante la deficiencia de calcio, la suplementación puede contribuir al aumento de las cantidades consumidas de este mineral, conduciendo a una reducción de la

resorción ósea (Rubinacci y col., 1996). Se recomiendan suplementos no superiores a 500 mg/día de calcio, con la excepción de personas que no toman ningún derivado lácteo (Schlenker, 1994), ya que dosis mayores pueden afectar negativamente a la absorción de hierro, reduciéndola hasta un 50% (Hallberg, 1991). La suplementación alimentaria o farmacológica es especialmente importante cuando existe déficit en la edad prepuberal, aumentando así la mineralización y el pico de masa ósea (Johnston y col., 1992).

En general, la población adulta europea cumple las recomendaciones de ingesta de calcio, por lo que el riesgo de deficiencia de este mineral es más probable en la edad juvenil, como se indicará posteriormente (Elmadfa y Weichselbaum, 2005).

2.5. Importancia del calcio en la adolescencia

Debido al acelerado desarrollo óseo y muscular, las necesidades de calcio son muy superiores durante la adolescencia a las de la infancia o la edad adulta. Como se indicó anteriormente, en el organismo humano existe un continuo proceso de formación y resorción del hueso y en la adolescencia la acreción predomina sobre la resorción. Dada la alta proporción de calcio corporal presente en el hueso y la importancia del hueso como el mayor reservorio de calcio, el desarrollo y mantenimiento óseo es el mayor determinante de las necesidades de este mineral. Como ya se ha comentado, aproximadamente un 45-50% de la masa ósea de un adulto se forma durante la adolescencia (Henry y col., 2004), alcanzando en torno al 90% de su masa adulta a los 17 años. Por todo esto, una ingesta adecuada de calcio durante esta época es especialmente importante para maximizar el pico de masa ósea (Weaver, 2000) y reducir el riesgo de fracturas osteoporóticas en la edad adulta (Tucker, 2003; Story y Stang, 2005).

El crecimiento esquelético implica un metabolismo óseo acelerado, que se manifiesta bioquímicamente a través de marcadores de formación y resorción, muy elevados durante la infancia y la pubertad, tales como desoxipiridinolina (DPD), fosfatasa alcalina (PA), osteocalcina o hidroxiprolina (Gertner, 1999). La concentración de calcitriol sérico ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) también es mayor durante el pico de crecimiento, en los estadios puberales II-III (Ilich y col., 1997).

Se sabe que la ingesta de calcio durante la adolescencia está directamente relacionada con la mineralización ósea, y que bajas ingestas en la pubertad podrían limitar el contenido de calcio en el hueso. Estudios de balance realizados en adolescentes, muestran un aumento en la retención de calcio paralelo al aumento de la ingesta, aunque ingestas superiores a 1300 mg/día ya no se acompañan de una mayor retención (Jackman y col., 1997). Por otro lado, si la ingesta de calcio en los chicos está por debajo de 500 mg/día, más del 50% del mineral ingerido debería retenerse para obtener una adecuada acreción mineral (Mølgaard y col., 1999). Esto indica que el calcio es un nutriente con umbral, es decir, las ingestas condicionan la acumulación ósea hasta un cierto valor máximo, por encima del cual aunque aumente la cantidad de mineral consumido, no se producirá mayor acumulación (Matkovic y Heaney, 1992).

Estudios realizados con niños de 6 a 19 años han mostrado cifras máximas de retención cálcica en mitad de la pubertad (estadio III), por lo que aconsejan un aumento en la ingesta de calcio durante esa época, con el fin de asegurar una correcta mineralización del hueso (Mølgaard y col., 1999).

La retención del mineral por el esqueleto está altamente relacionada con los cambios hormonales asociados a la pubertad, comenzando de 2 a 3 años antes de la misma, cuando se observa una aceleración del crecimiento. Así, el aumento de las hormonas sexuales durante el período prepuberal tiene un efecto positivo sobre la acumulación de calcio por el esqueleto (Krabbe y col., 1979).

Aunque la ingesta de calcio de los niños ha aumentado en las últimas décadas, un alto porcentaje de niños americanos y europeos no alcanza las recomendaciones para su edad (Bowman, 2002; Elmadfa y Weichselbaum, 2005), encontrándose que sólo el 11% de las chicas y el 23% de los chicos americanos consumen tres o más vasos de leche al día (Grunbaum y col., 2004) y sólo el 19% de las chicas y el 52% de los chicos alcanzan las recomendaciones de calcio (Damore y col., 2007). En la población adolescente española, un 13-14% de los chicos tienen ingestas inadecuadas de calcio, mientras que en el caso de las chicas, estos valores ascienden hasta un 29-40% (Serra-Majem y col., 2006a).

A continuación se muestran los datos de ingesta media de calcio (mg/día) para distintos grupos de edad y sexo en adolescentes. Se presentan de forma

comparativa los resultados de consumo en adolescentes españoles según el estudio enKid (Serra-Majén y col., 2006a), alemanes según es estudio DONALD (Kersting y col., 2001), y americanos según el estudio NHANES (U.S. Department of Health and Human Services, 2004), además de las ingestas recomendadas para cada grupo según su procedencia.

Tabla 1.- Ingesta media de calcio (mg/día) e ingestas recomendadas para la población adolescente

Consumo de calcio (mg/día)								
España (Enkid)			Europa (Donald)			EEUU (Nhanes)		
Edad	Chicos	Chicas	Edad	Chicos	Chicas	Edad	Chicos	Chicas
10-13	1010	862	10-12	791	727	6-11	915	860
14-17	1030	823	13-14	894	561	12-19	1081	793
18-24	993	845	15-18	958	869			

Ingestas recomendadas de calcio (mg/día)								
España (Moreiras y col., 2004)			Europa (Scientific Committee for Food, 1992)			EEUU (Dietary Reference Intakes, 2001)		
Edad	Chicos	Chicas	Edad	Chicos	Chicas	Edad	Chicos	Chicas
10-12	1000	1000	11-14	1000	800	9-13	1300	1300
13-15	1000	1000	15-17	1000	800	14-18	1300	1300
16-19	1000	1000	18+	700	700	19+	1000	1000

Como se observa, prácticamente todos los adolescentes europeos y americanos no cumplen las recomendaciones de calcio, a excepción de los chicos españoles de 10-17 años.

La incorporación de la leche y derivados lácteos a la dieta de los adolescentes es el modelo dietético más apropiado para alcanzar las recomendaciones de calcio (Weaver, 2006) y lograr una adecuada mineralización ósea (Cadogan y col., 1997; Smart y col., 1997). Éstos contribuyen desde un 42% del total del calcio ingerido por los adolescentes británicos (Moynihan y col., 1996), hasta un 70% en el caso de los australianos (Department of Community Services, 1989), destacando la leche, con un rango de consumo del 25% al 56% del total de lácteos (Department of Community Services, 1989; Moynihan y col., 1996), seguida de queso, helado y yogurt (Subar y col., 1983). Para la población adolescente española, los productos lácteos contribuyen aproximadamente en un 60% del calcio ingerido (Serra Majem y Aranceta Bartrina, 2004).

Cantidades extra de calcio en niños aumentan la densidad ósea en un 1-5%, siendo incluso de un 10% cuando los productos lácteos son la fuente de este mineral (Kerstetter e Insogna, 1995). Lyritis y col. (1997) encontraron una correlación entre el consumo de productos lácteos en los jóvenes y su densidad ósea. Sin embargo, es en este colectivo donde se ha observado un descenso en la ingesta de productos lácteos debido, fundamentalmente, a la sustitución de la leche y los derivados lácteos por el consumo de refrescos y comidas rápidas (Bryant y col., 1999; Larson y col., 2006). Los refrescos pueden afectar negativamente a la mineralización ósea por varias razones: por la mencionada sustitución del consumo de leche y derivados lácteos, afectando a la ingesta de calcio e indirectamente a la densidad mineral ósea (Bryant y col., 1999), por su contenido en ácido fosfórico, el cual puede limitar la absorción del calcio y contribuir a la resorción ósea (Whyshak y Frisch, 1994) y por la cafeína que contienen, asociada a una reducida densidad mineral ósea (Barrett-Connor y col., 1994) y a un posible incremento del riesgo de fracturas (Kiel y col., 1990), demostrado en niños que consumen frecuentemente bebidas de cola (Heaney y col., 2001).

Como se mencionó anteriormente, existen evidencias de una relación positiva entre la ingesta de frutas y verduras y la salud ósea (Jones y col., 2001). Los adolescentes que toman adecuadas cantidades de este grupo de alimentos muestran una mayor mineralización ósea que aquéllos que consumen menos de 5 raciones/día (Whiting y col., 2004; Vatanparast y col., 2005).

De la misma manera, una mayor ingesta de pescado y una menor ingesta de carne, tienen un efecto beneficioso sobre la densidad ósea en los adolescentes (Hirota y col., 2005).

Los factores genéticos y étnicos, los hábitos dietéticos, el peso corporal y otros factores asociados al estilo de vida tales como la actividad física y el tabaco, pueden influir sobre la acreción de la masa ósea durante la adolescencia (Ott, 1990). La actividad física durante los años críticos de crecimiento tiene una importante contribución sobre dicha masa, de forma que una baja ingesta de calcio puede ser compensada por una regular actividad física (Nickols-Richardson y col., 1999; Anderson, 2000).

Durante la adolescencia es necesario un balance de calcio positivo para alcanzar el pico máximo de masa ósea, continuando la deposición de minerales después del cese del crecimiento en altura (Anderson y Garner, 1996). Generalmente el balance es más positivo cuando la ingesta es mayor, por lo que se sugiere que el calcio ingerido puede ser limitante de la velocidad de crecimiento en los humanos, al igual que ocurre en los animales (Matkovic y Heaney, 1992).

En los períodos de máximo crecimiento la absorción puede llegar al 75% del calcio ingerido (Nacional Research Council, 1989), por lo que es importante que la dieta aporte la cantidad adecuada para conseguir una máxima densidad en los huesos. Un estudio realizado en sujetos de 9 a 14 años, mostró que en un rango de ingesta entre 750 y 1400 mg Ca/día, se observaba una correlación positiva entre el aumento del consumo y el total de calcio absorbido (mg/día) (Abrams y col., 1997).

La cantidad de calcio urinario se duplica desde la infancia (40 mg/día) hacia el comienzo de la adolescencia (80 mg/día), sin embargo, durante el pico de máximo crecimiento se observa un descenso, para, posteriormente, producirse un aumento mayor hasta alcanzar los valores propios de la edad adulta (100-250 mg/día) (Peacock, 1987; Manz y col., 1999). Ese descenso es más marcado cuando los valores de excreción urinaria se refieren al peso corporal (mg/kg/día), mostrándose niveles mínimos a la edad de mayor velocidad de crecimiento entre los 13-15 años en los chicos y entre los 11-14 años en las chicas (Manz y col.,

1999). Debido a las altas necesidades del mineral durante este grupo de edad, con ingestas del orden de 500 mg Ca/día, la excreción urinaria cálcica oscila en torno a 120 mg/día y aumentos en la ingesta por encima de 1800 mg/día sólo incrementan esta excreción en 10-20 mg/día. Abrams y col. (1997) muestran valores de excreción urinaria de calcio del orden de 90 y 67 mg/día para chicas y chicos de 9-14 años, respectivamente, mientras que otros estudios sugieren valores de 56 mg/día en chicas de 11 años (Manz y col., 1999).

A partir del calcio absorbido, los adolescentes retienen en el esqueleto la cantidad del mineral necesaria para saturar este compartimento, excretándose el resto por la orina (Matkovic, 1991; Weaver y col., 1995). Durante la adolescencia, la retención de calcio es mayor que en los adultos debido a una incrementada absorción y una disminución de la resorción ósea (Wastney y col., 2000). La retención media durante esta etapa es de 210 mg Ca/día, pudiendo duplicarse y llegar incluso a valores de 400 a 500 mg/día durante el período de pubertad y crecimiento máximo (NIH Consensus Conference, 1994). Si se relaciona la retención de calcio por el esqueleto con la medida del crecimiento óseo, Cohn y col. (1980) estimaron valores máximos de retención a la edad de 10-12 años en las chicas y de 12-13 años en los chicos. Si se relaciona la retención con la densidad ósea, los valores máximos se producirán entre los 10-14 años en las chicas y entre los 13-18 años en los chicos, debido a que, como se mencionó anteriormente, la acreción ósea continúa cuando el crecimiento longitudinal ha parado, pudiendo prolongarse durante la tercera década de la vida (Anderson y Garner, 1996). El pico de mayor acreción ósea ocurre a la edad de 12-13 años en las chicas y 13,5-14,5 años en los chicos (Bailey y col., 1999; Mølgaard y col., 1999). Durante los 2 años alrededor de este rango de edad, los chicos ganan una media de 407 ± 92 g de masa mineral ósea por año, mientras que las chicas ganan 322 ± 66 g (Whiting y col., 2004).

3. HIERRO

3.1. Aspectos generales

El hierro es un micronutriente esencial para los organismos por ser integrante o cofactor de numerosas proteínas y enzimas. Se trata de un elemento de transición que puede existir en distintos estados de oxidación, como forma férrica (Fe^{3+}) o ferrosa (Fe^{2+}). El paso de un estado a otro le permite actuar como catalizador en las reacciones redox, participar en la transferencia de electrones y unirse reversiblemente a diversos ligandos, entre los que destacan oxígeno, nitrógeno y azufre. Todo ello contribuye a que el hierro intervenga en importantes reacciones biológicas.

El contenido total de hierro en el organismo es variable y dependiente del peso, sexo, tamaño de los almacenes, etc. El hombre posee aproximadamente 3,8 g de hierro total, mientras que en la mujer esta cantidad desciende a los 2,3 g. El elemento se encuentra como hierro funcional, hierro de reserva o hierro de transporte.

▪ **Hierro funcional:** Supone aproximadamente dos tercios del contenido total en el organismo y corresponde al hierro que está realizando una función metabólica. La mayor parte del hierro funcional se encuentra en forma de proteínas hemo (hierro hemo), caracterizado por la facilidad con que acepta y libera oxígeno y electrones, de ahí su actuación en numerosas funciones como:

- *Transporte de oxígeno:* formando parte de la hemoglobina en los hematíes circulantes, encargada de transportar el oxígeno de los alvéolos pulmonares a los tejidos, o de la mioglobina del músculo, que almacena el oxígeno en el tejido y lo libera ante las mayores demandas que exige la contracción.

- *Sustrato de oxidación-reducción:* integrando sistemas enzimáticos que participan en reacciones de oxidación y reducción, como citocromos u oxidorreductasas.

El hierro funcional también puede encontrarse como proteínas no hemo (hierro no hemo), formando parte de determinadas enzimas relacionadas con el metabolismo oxidativo, como la catalasa.

- **Hierro almacenado:** Las dos principales formas de almacenamiento de hierro son la ferritina y la hemosiderina, integrantes de los depósitos corporales, que almacenan hasta un 30% del contenido de hierro en los varones, mientras que en las mujeres estos depósitos representan sólo la octava parte del total. La ferritina es la forma básica de almacenamiento, mientras que la hemosiderina resulta de la agregación de restos de ferritina parcialmente degradada, originada cuando la concentración del elemento en la ferritina es alta.
- **Hierro transportado:** El hierro se transporta unido a la transferrina en forma de Fe férrico. La transferrina se encarga del transporte del elemento desde la superficie basolateral del enterocito a los tejidos periféricos y lo protege frente a la filtración glomerular. Supone el 0,1-0,2% del hierro corporal total.

3.2. Fuentes y requerimientos

El hierro se encuentra en un número limitado de alimentos animales y vegetales. Destacan fundamentalmente las carnes y en especial el hígado y derivados, seguidas de legumbres, frutos secos y determinadas verduras, aunque con menor disponibilidad. El hierro hemo sólo se encuentra en alimentos de origen animal, constituyendo el 40% del total, y procede fundamentalmente de la hemoglobina y de la mioglobina de las carnes, las aves y el pescado, contribuyendo en un 5-10% (Lawson y col., 1998) o incluso en un 10-15% al total de hierro ingerido (es decir, 1-3 mg/día) en dietas de países desarrollados (Hallberg y Rossander, 1982; Spodaryk, 1999). La forma no hemo constituye el 60% del hierro en los alimentos de origen animal y además es la única forma existente en los alimentos de origen vegetal (Herbert, 1987), representando la mayor parte del hierro de la dieta, en general superior al 85% del total (Hallberg y Rossander, 1982).

Los requerimientos de hierro deben reponer la cantidad perdida y las demandas propias del organismo en crecimiento, variando en función de la edad y el sexo entre los 6 mg/día durante los 6 primeros meses de vida a los 10 mg/día para hombres adultos, 15 mg/día para mujeres adultas en edad fértil y hasta los 30 mg/día en caso de embarazo (Dietary Reference Intakes, 2001). Las recomendaciones para la adolescencia se indicarán posteriormente.

3.3. Absorción, transporte y eliminación

Aunque el hierro puede absorberse a lo largo de todo el intestino, su absorción es más eficiente en el duodeno y la parte alta del yeyuno (Muir y Hopfer, 1985; Schümann y col., 1990). El proceso de absorción del hierro puede dividirse en tres etapas: captación por la célula intestinal, transporte del elemento en su interior y almacenamiento y/o transferencia por la membrana basolateral, aunque no se descarta que pueda absorberse, en cierta medida, por vía paracelular.

Fase luminal: El hierro de la dieta se presenta mayormente en forma férrica pobremente absorbible debido a su insolubilidad al pH intestinal (Raja y col., 1987; Wollenberg y Rummel, 1987), por lo que es necesaria su reducción a forma ferrosa. El ácido clorhídrico del estómago, junto con la pepsina, además de separar al hierro de otros compuestos, favorece la solubilización del mismo por su reducción a estado ferroso, por tanto, factores que disminuyen la acidez del estómago pueden debilitar la absorción de este mineral (Conrad, 1987; Gavin y col., 1994).

A niveles fisiológicos, la captación del hierro es mediada por una serie de receptores y proteínas de unión, mientras que a mayores niveles puede ser absorbido pasivamente vía paracelular (Beard y Dawson, 1997). Durante la fase intestinal de la digestión, el hierro está presente en el lumen como hierro hemo o como hierro no hemo, absorbiéndose por mecanismos distintos (Björn-Rasmussen y col., 1974). El hierro hemo es captado directamente por el enterocito y tras una acción enzimática, es procesado de la misma manera que el hierro no hemo. Este último es transferido a proteínas de unión del lumen, lo que permite su unión a un transportador específico existente en la membrana del enterocito, siendo transportado el hierro al interior de la célula.

Fase intraeritrocitaria: Una vez en el interior, el hierro puede quedar almacenado formando parte de la ferritina y de la hemosiderina o ser movilizado hacia la vía sanguínea.

Fase de transferencia: Desde la membrana basolateral del enterocito se libera el hierro hacia el interior del organismo, debiendo ser oxidado a estado férrico para unirse a la transferrina y ser transportado. El hierro unido a la transferrina llegará a hígado y bazo para su almacenamiento, a la médula ósea

para la síntesis de hemoglobina y formación de hematíes, a células del sistema retículo endotelial (macrófagos), a todas las células para la síntesis de enzimas que requieren hierro y, en el caso de gestación, al feto para cubrir sus necesidades.

a) Factores que afectan a la absorción

El proceso de absorción del hierro es regulado por factores intraluminales, mucosales, y somáticos (Conrad y Umbreit, 2000).

a.1. Entre los *factores intraluminales* se incluyen la cantidad y tipo de hierro presente en la dieta, el pH o la acidez gástrica y la presencia de otros factores dietéticos que favorecen o dificultan la absorción del mineral. Una dieta puede aportar diariamente 0,7, 1,4 ó 2,1 mg de hierro disponible según tenga baja, intermedia o alta disponibilidad (Bothwell y col., 1989).

El hierro hemo y el no hemo se absorben por mecanismos distintos, viéndose afectados por diversos factores potenciadores o inhibidores de su absorción (Fishman, 2000; Martínez-Navarrete y col, 2002; Swanson, 2003). Debido a que el hierro hemo se absorbe como estructura porfirínica, está poco influenciado por los factores dietéticos (Bothwell y col., 1989; Pizarro y col., 2003), ya que en esta forma química no puede ser quelado por diferentes ligandos. Se ve afectado por las proteínas de origen animal, que favorecen su absorción (Lynch y col., 1985), y por el calcio, que la disminuye (Hallberg y col., 1993). Aunque la proporción del hierro hemo en la dieta es menor que la del hierro no hemo, su absorción es mayor (15-40%) (Hallberg y col., 1997), debido a la estructura porfirínica (South y col., 2000) o a la porción proteica de la molécula de hemoglobina, siendo posible que los péptidos liberados durante la digestión de la globina puedan mejorar la disponibilidad del hierro a través de un aumento de su solubilidad (Fly y Czarnecki-Maulden, 2000). La disponibilidad del hierro hemo también puede verse afectada por el tratamiento culinario al que la comida se ve sometida, debido a la consecuente desnaturalización provocada por el calor (García y col., 1996; Hallberg y Hulthen, 2002). Tratamientos prolongados de fritura u horneado pueden disminuir esta disponibilidad en un 40% (Martínez-Torres y col., 1986).

La absorción del hierro no hemo se ve afectada por un gran número de factores que aumentan o disminuyen su disponibilidad (Hallberg y Hulthen, 2000; Martínez-Navarrete y col., 2002). Su eficacia de absorción presenta valores del 1-15% (Hallberg y col., 1997), aunque en el caso de individuos deficientes o en dietas con gran cantidad de potenciadores, dichos valores pueden llegar al 20% (Fairweather-Tait, 1996), alcanzando cifras incluso mayores que las del hierro hemo.

▪ **Factores dependientes de la dieta**

La disponibilidad del hierro de la dieta juega un papel significativo en la absorción del elemento en el organismo (Wienk y col., 1999), viéndose afectada por diversos factores dietéticos que potencian o inhiben la absorción. Entre los **potenciadores** destacan:

- **Ácido ascórbico**: es el mayor potenciador de la absorción del hierro no hemo (Teucher y col., 2004, Tetens y col., 2005), no afectando a la absorción del hierro hemo (Hallberg y Hulthen, 2002); sin embargo, su efecto prolongado no parece ser suficiente para mejorar el estatus férrico (Hunt y col., 1994). El efecto potenciador se debe a que promueve las condiciones ácidas dentro del estómago, solubilizando el hierro de la dieta, reduce el hierro férrico a ferroso, fácilmente absorbible, forma quelatos con el hierro a nivel del estómago y mantiene la solubilidad del hierro no hemo cuando la comida entra en el ambiente alcalino del intestino delgado (Bothwell y col., 1989; Davidsson y col., 1998). Favorece la absorción del mineral cuando se consume en la misma comida o en individuos con deficiencia de hierro (Monsen, 1982), produciendo un efecto menor cuando es consumida de 4 a 8 horas antes de la comida o en individuos con estatus férrico normal. Así, el efecto potenciador de la vitamina C es superior comparado con un aumento en la ingesta de carne o un descenso en la ingesta de ácido fítico (Tetens y col., 2005). Tratamientos térmicos prolongados pueden conducir a la destrucción de ácido ascórbico y por consiguiente, a deteriorar su efecto sobre la disponibilidad del hierro (Bothwell y col., 1989). Otros ácidos orgánicos tales como el ácido cítrico, málico o tartárico también potencian la absorción del hierro (Bothwell y col., 1989).

- **Vitamina A y β -caroteno:** pueden potenciar la absorción del hierro no hemo y contribuir a un incremento de los niveles de hemoglobina (García-Casal y col., 1998), aunque algunos estudios sugieren que esto sólo ocurre en individuos hierro deficientes (Walczyk y col., 2003). Layrisse y col. (1997) afirman que el efecto potenciador de la vitamina A sobre la absorción del hierro es debido a una interacción fisicoquímica entre el mineral y la vitamina, resultando un complejo donde el hierro es disponible para su absorción. Otros autores sugieren que la deficiencia de vitamina A disminuye la síntesis de transferrina, lo que debilita la movilización del elemento desde los almacenes de ferritina (Mejía y Arroyave, 1982), por lo que se reduce el transporte de hierro a la médula ósea dando lugar a una eritropoyesis ineficaz (Bloem y col., 1990; Roodenburg y col., 1996).

- **Proteínas animales:** las proteínas de origen animal procedentes de carne, pollo y pescado, además de ser una fuente excelente de hierro hemo disponible (Hunt, 2003a), aumentan tanto la absorción del hierro hemo (Layrisse y col., 1984) como la del no hemo de la dieta (Heath y Fairweather-Tait, 2002; Hurrell y col., 2006), contrarrestando el efecto inhibidor de fitatos y taninos (Hallberg y Hulthen, 2002). El llamado “factor carne” parece ser debido a que los péptidos liberados durante la digestión de las proteínas forman complejos con el hierro dentro del lumen intestinal, aumentando su solubilidad (Baech y col., 2003a). Los grupos sulfhidrilos de aminoácidos como la cisteína, principal producto de la digestión de las proteínas animales (Martínez-Torres y Layrisse, 1970), reducen el Fe^{3+} a Fe^{2+} , facilitando, por tanto, su absorción (Mulvihill y col., 1998). Un incremento en la temperatura de cocinado a bajos niveles (30-70°C) aumenta el contenido de grupos sulfhidrilos reactivos, sin embargo, a altas temperaturas (90-120°C), el contenido en sulfhidrilos disminuye por su oxidación a grupos disulfuros. Por tanto, puede decirse que el “factor carne” disminuirá a altas temperaturas de cocinado. Alternativamente, altas temperaturas pueden potenciar la absorción del hierro no hemo debido a cambios estructurales de las proteínas de la carne (Baech y col., 2003b).

Entre los factores **inhibidores** destacan:

- **Fitatos:** Vitali y col. (2007), al igual que Reddy y col. (2000), encontraron una correlación negativa entre el ácido fítico y la absorción del hierro no hemo,

debido a la formación de quelatos insolubles (Reddy y col., 1996; Vitali y col., 2007). Este efecto puede ser evitado por el consumo de pequeñas cantidades de carne y vitamina C (Davidsson y col., 2001; Baech y col., 2003a), que impiden la formación de dichos quelatos, así como por procesos de degradación del ácido fítico (Davidsson y col., 2001). En comidas con bajo contenido en fitato, la absorción del hierro soluble incrementará si la proporción molar de ácido ascórbico: hierro es $\geq 2:1$, mientras que cuando el fitato está presente en mayor cantidad, la proporción necesaria para el aumento de dicha absorción será $\geq 4:1$ (Hurrell, 2002, Teucher y col., 2004).

- **Polifenoles:** estos compuestos, fundamentalmente los taninos presentes en el té, café y algunos vegetales, se unen al hierro para formar complejos insolubles que son pobremente absorbibles (Samman y col., 2001). La absorción del hierro presente en una comida puede reducirse hasta en un 60% si se acompaña de una taza de té (Hallberg y Rossander, 1982; Morck y col., 1983) y en un 39% si se hace con una taza de café (Morck y col., 1983). En otros trabajos, Hallberg y Rossander-Hulthen (1989) encontraron que la inhibición de la absorción del hierro por el té es 4 veces mayor que por el café.

De forma similar, Cook y col. (1995) mostraron que la absorción del hierro fue de 2 a 3 veces mayor consumiendo vino blanco que vino tinto, el cual contiene una concentración de polifenoles 10 veces mayor.

- **Fibra dietética:** estudios in vitro demuestran que la habilidad de la fibra dietética para disminuir la disponibilidad mineral depende del tipo y de la cantidad de fibra de la dieta, produciéndose diferencias en los resultados obtenidos en función de las condiciones experimentales del estudio (Idouraine y col., 1996). La diferencia de los resultados puede ser debida al contenido en polifenoles, considerados constituyentes de la fibra (Bravo y col., 1995). La inulina puede potenciar la disponibilidad del elemento, contrarrestando los efectos de diferentes inhibidores de la absorción (López y col., 2000) o no afectarla (Bosscher y col., 2003), mientras que otras fibras como las procedentes de trigo, avena o manzana pueden disminuirla (Bosscher y col., 2003; Vitali y col., 2007).

- Interacción con otros **minerales**: algunos iones metálicos con propiedades fisicoquímicas similares pueden competir por el mismo sistema de transporte celular, de tal forma que un exceso en la concentración de uno de ellos puede conducir a una reducción en los niveles de absorción de otros elementos. En el caso del hierro, esto ocurre cuando se produce una interacción con el *zinc* (O'Brien y col., 1999) o con el *calcio* (Yan y col., 1996). La interacción entre el hierro y el zinc ocurre en el lugar de absorción, probablemente debido a la presencia de un transportador común (Peres y col., 1999), por tanto, el zinc puede tener un efecto negativo sobre la absorción, captación y almacenamiento del hierro (Merzenich y col., 1994). Según Rossander-Hulthen y col. (1991), en presencia de sustancias orgánicas, el hierro y el zinc son absorbidos por diferentes mecanismos, siendo el riesgo de las interacciones entre ellos mayor cuando los nutrientes son aportados como suplementos, por lo que la menor absorción de hierro se produce cuando el zinc se suministra en altas dosis en soluciones acuosas, mientras que no ocurre cuando es consumido en las comidas.

El calcio disminuye la absorción de ambos tipos de hierro (Gleerup y col., 1995; Hallberg, 1998) por interferir en la transferencia del metal a partir de las células de la mucosa (Hallberg y col., 1997), por la formación de complejos pobremente disponibles cuando se adiciona en forma de sales (Monsen y Cook, 1976) o por la interferencia con el efecto potenciador de la carne sobre la absorción del hierro no hemo y la influencia directa sobre el hierro hemo (Hallberg y col., 1991). El efecto inhibitorio depende de la dosis, de tal forma que ingestas inferiores a 40 mg de calcio no producen inhibición en la absorción de hierro, mientras que el máximo efecto se alcanza con ingestas cálcicas de 300 mg (Hallberg, 1998). A pesar de esto, otros estudios sugieren que la inhibición de la absorción del hierro por ingestas incrementadas de calcio no persiste después de la adaptación a la dieta de alto contenido en calcio (Wauben y Atkinson, 1999). Este mineral tiene que estar presente en la misma comida que el hierro para interferir en su absorción, de tal forma que si es consumido de 2 a 4 horas antes no tiene efecto depresor sobre la absorción del hierro (Gleerup y col., 1993).

El *cobre* es esencial para el metabolismo del hierro y para la síntesis de hemoglobina, aunque cuando la ingesta es elevada, puede afectar negativamente sobre su absorción (Fritz y col., 1977). De forma similar, altas dosis de

manganeso pueden disminuir la utilización del hierro debido a la competencia entre ambos elementos a nivel de absorción intestinal (Rossander-Hulthen, 1991).

- Las **fosfoproteínas** presentes en la yema de huevo disminuyen la absorción del hierro (Hallberg y Hulthen, 2000), no limitándose al encontrado en el huevo, sino afectando también a la absorción del hierro total en la misma comida (Cook y Monsen, 1976).

Como se ha mencionado anteriormente, el *procesado de las comidas* puede potenciar o reducir la disponibilidad del hierro (Baech y col., 2003b). El calentamiento y almacenamiento de platos preparados puede destruir el ácido ascórbico y disminuir la absorción del hierro. Prolongados métodos de cocinado, tales como fritura o cocción, también reducen la absorción del hierro (Martínez-Torres y col., 1986). El almacenamiento prolongado de los alimentos enlatados puede provocar liberación de hierro desde los envases e incrementar la cantidad total del elemento absorbido (Henriksen y col., 1985). Otros compuestos que se forman durante el procesado y la conservación de los alimentos como los productos de la reacción de Maillard (PRM), son capaces de comportarse como polímeros aniónicos y formar complejos con determinados metales, afectando así a su biodisponibilidad (Tapiero y col., 2001; Navarro, 2003). Así, los PRM también inhiben la absorción del hierro no hemo (Tapiero y col., 2001).

a.2. Diversos **factores mucosales** influyen en la absorción del hierro, tales como el pH intestinal, la superficie mucosal disponible, los trastornos clínicos o la motilidad de la mucosa intestinal. Debido a que la absorción del hierro tiene lugar mayormente a nivel de duodeno y yeyuno, los factores que aumentan el tránsito a través de estas áreas disminuyen la absorción del elemento (Conrad, 1993).

a.3. Los **factores somáticos o corporales** incluyen la magnitud en los almacenes de hierro corporal, el estado hematológico, reflejado por el nivel de hemoglobina, el grado de eritropoyesis o la presencia de deficiencias o enfermedades que influyen sobre la absorción del metal. Dichos factores señalan al enterocito las necesidades de hierro para la hematopoyesis, de forma que individuos con depósitos normales de hierro presentan datos de absorción del 5-10%, frente al 10-20% en sujetos hierro deficientes (Herbert, 1987), es decir, el

estatus férrico de un individuo está inversamente correlacionado con la cantidad de hierro absorbido (Cook y col., 1991; Reddy y col., 2000).

Por tanto, los factores intraluminales y mucosales influirán sobre la disponibilidad del mineral en el organismo, pero son los factores somáticos los verdaderos reguladores de la absorción del hierro disponible.

La absorción media en los varones es de alrededor de 6% del hierro alimentario total, mientras que en las mujeres en edad fértil llega a 13% (Charlton y Bothwell, 1983) con la finalidad de compensar las pérdidas de hierro asociadas a la menstruación.

La mayor parte del recambio de hierro está relacionada con la producción y destrucción de los eritrocitos. Éstos contienen alrededor de 2/3 del hierro orgánico total y su esperanza de vida normal es de 120 días. El hierro de los eritrocitos degradados vuelve a ser captado y destinado a la síntesis de hemoglobina.

b) Eliminación

Las pérdidas obligatorias eliminadas diariamente de este elemento oscilan entre 1 y 2 mg/día, fundamentalmente a través de las heces (0,6 mg/día), procedentes de la bilis, de las células de la mucosa y de diminutas cantidades de sangre (Green y col., 1968). Cantidades menores se pierden con las células descamadas y con el sudor (de 0,2 a 0,3 mg/día). La excreción férrica fundamentalmente se produce a través de las heces, siendo mínimas las pérdidas urinarias (menos de 0,1 mg/día). En la mujer hay que añadir las pérdidas relacionadas con las hemorragias menstruales, calculadas entre 0,4 y 0,5 mg/día (Cole y col., 1971).

3.4. Deficiencia de hierro

La deficiencia de hierro surge cuando la cantidad ingerida no satisface las necesidades del organismo, ya sea por una ingesta insuficiente, una absorción deficiente o un exceso en las pérdidas fisiológicas causadas por hemorragias, lesiones o enfermedades (Villa Elízaga y col., 1999). La deficiencia de hierro es

el déficit nutricional más común tanto en países industrializados como en vías de desarrollo (Pynaert y col., 2005; Shafir y col., 2006), afectando aproximadamente al 20-30% de la población (Swanson, 2003). La mayoría de los casos ocurren en países en vías de desarrollo donde las condiciones sanitarias y nutricionales no son adecuadas, y afecta principalmente a grupos de edad en los que los requerimientos o las pérdidas fisiológicas de hierro están aumentados, como es el caso de niños y mujeres en edad reproductiva.

3.5. Importancia del hierro en la adolescencia

Durante el desarrollo puberal un adolescente aumenta unos 10 kg de peso, lo que supone el incremento de unos 300 mg de su hierro corporal (Finch, 1994) para satisfacer el aumento de hemoglobina debido a la expansión del volumen de sangre (0,18 mg Fe/día en chicos; 0,14 mg Fe/día en chicas), de mioglobina por el aumento de la masa muscular (0,55 mg Fe/día en chicos; 0,33 mg Fe/día en chicas) o de enzimas que acompañan al incremento del ritmo de crecimiento (Muñoz Hoyos y Molina Carballo, 2005). En este período la hemoglobina aumenta entre 50-100 g/l/año hasta alcanzar los niveles de los adultos (Dallman, 1992), necesiéndose hierro para esta expansión y para compensar las pérdidas en la renovación diaria de eritrocitos (Fomon y col., 2003). Esta doble necesidad de aportar hierro para un mayor tamaño corporal y para una masa eritrocitaria más grande supone un incremento igual o aproximado al 25% del hierro corporal total durante el año de crecimiento máximo. En las chicas, además, las pérdidas debidas a la menstruación supondrán un aumento en las demandas de hierro.

La utilización del hierro para incrementar la masa de hemoglobina depende de la estimación de la velocidad del incremento del volumen sanguíneo y del cambio en la concentración de hemoglobina. El volumen sanguíneo se estima aproximadamente en 75 ml/kg en chicos y 66 ml/kg en chicas (Hawkins, 1964). El contenido de hierro de la hemoglobina es 3,39 mg/g (Smith y Rios, 1974). El crecimiento más intenso de los varones durante el estirón puberal hace que inicialmente necesiten 2,9 mg Fe/día frente a 1,1 mg Fe/día necesitados por las chicas (Institute of Medicine, 2001). Después de instaurarse la menstruación, los requerimientos en éstas son ligeramente más elevados, situación que se

mantendrá hasta la menopausia. Se estima que en cada menstruación se pierden de 30 a 40 ml de sangre (máximo 80 ml), calculándose pérdidas de 15-30 mg Fe/ciclo. En consecuencia, una adolescente en pleno pico de crecimiento requiere alrededor de 455 mg de hierro por año, frente a los 350 mg necesarios por el adolescente varón (Lanzkowski, 1985).

Al igual que para el calcio, en la Tabla 2 se muestran los datos de ingesta media de hierro (mg/día) para adolescentes de distinta edad y sexo. Se presentan de forma comparativa los resultados de consumo en adolescentes españoles según el estudio enKid (Serra-Majem y col., 2006a), alemanes según es estudio DONALD (Kersting y col., 2001), y americanos según el estudio NHANES (U.S. Department of Health and Human Services, 2004), además de las ingestas recomendadas para cada grupo según su procedencia.

Como se observa, el consumo de hierro entre los adolescentes varones de los países desarrollados suele ser superior a las recomendaciones. En las chicas, sin embargo, la ingesta es frecuentemente inferior a la recomendada, excepto en Estados Unidos.

Como el requerimiento de ingesta de hierro depende fundamentalmente de la masa magra, se establece que, creciendo dentro del percentil 50, un varón adolescente requiere 42 mg de hierro por kg de peso ganado y una mujer adolescente 31 mg de hierro por kg de peso ganado. La media de peso ganado en los chicos durante el estirón puberal es de 15,2 g/día, mientras que en las chicas es de 6,76 g/día. Esto supone una demanda de 0,63 mg/día de hierro para los chicos y de 0,20 mg/día para las chicas (Tojo y col., 1991).

Son escasos los datos de la bibliografía referidos a estudios de balance de hierro en humanos y especialmente en adolescentes. Balances llevados a cabo en adultos con depósitos normales de hierro, consumiendo dietas que permiten buena disponibilidad del hierro, muestran datos de digestibilidad del 4,3% (Hunt y Roughead, 2000), mientras que las RDA estiman cifras en torno al 10% (Monsen y col., 1978).

Las necesidades diarias dependerán de las fuentes de procedencia, debido a la gran variación en el coeficiente de absorción del hierro contenido en los distintos alimentos. Diferentes estudios muestran que el hierro medio disponible de la dieta

de los adolescentes es inferior al 10% de las RDA (Viglieti y Skinner, 1987). Además de cubrir las necesidades para el crecimiento, la cantidad de hierro absorbida debe compensar las pérdidas diarias del mineral, estimadas en 0,62-0,90 mg/día (British Nutrition Foundation, 1995).

Tabla 2.- **Ingesta media de hierro (mg/día) e ingestas recomendadas para la población adolescente**

Consumo de hierro (mg/día)								
España (Enkid)			Europa (Donald)			EEUU (Nhanes)		
Edad	Chicos	Chicas	Edad	Chicos	Chicas	Edad	Chicos	Chicas
10-13	15,1	12,7	10-12	11,9	10,2	6-11	15,3	13,3
14-17	16,6	12,5	13-14	13,3	10,5	12-19	18,3	13,4
18-24	16,2	12,9	15-18	12,7	10,5			

Ingestas recomendadas de hierro (mg/día)								
España (Moreiras y col., 2004)			Europa (Scientific Committee for Food, 1992)			EEUU (Dietary Reference Intakes, 2001)		
Edad	Chicos	Chicas	Edad	Chicos	Chicas	Edad	Chicos	Chicas
10-12	12	15	11-14	10	18-22	9-13	8	8
13-15	15	15	15-17	13	17-21	14-18	11	15
16-19	15	15	18+	9	16-20	19+	8	18

Para el estirón puberal durante la adolescencia, se estiman necesidades extras de hierro de 0,55-0,60 mg/día para los varones y de 0,35-0,55 mg/día para las mujeres (British Nutrition Foundation, 1995). Otros estudios estiman necesidades extras de hierro para el crecimiento de 0,77 mg/día para los chicos, por lo que, considerando pérdidas de 0,70 mg Fe/día, se requiere una cantidad total de 1,47 mg Fe absorbido/día durante el pico del estirón puberal (Fomon y col., 2003),

cifra algo inferior a la cantidad estimada por las RDA (1,8 mg /día) o por otros autores como Bothwell y col. (1989) (1,6 mg/día) o Tapiero y col. (2001) (2,03 mg/día) para el mismo colectivo y superior en un 50% a la requerida por adultos del mismo sexo (Fomon y col., 2003).

Las posibles deficiencias de hierro a pesar de existir una ingesta adecuada, pueden ser debidas a una absorción disminuida de este mineral en la dieta y, por tanto, a una inadecuada utilización del mismo. La prevalencia de la deficiencia de hierro en los adolescentes españoles varía entre 8,6% y 12,6% en chicos y chicas, respectivamente (Durá Travé y col., 2002). En el año 2000, dicha prevalencia en los países en vías de desarrollo fue del 42% y del 17% en países desarrollados siendo mayor en África y en Asia. Cifras menores (2-5%) se encontraron en Europa y Norteamérica (Center for Disease Control and Prevention, 2002) siendo de 0-3% entre los adolescentes españoles.

El hierro ejerce un importante papel en el funcionamiento del sistema nervioso, en la síntesis y metabolismo de los neurotransmisores y en la funcionalidad del sistema inmune (Scrimshaw, 1991), por lo que su deficiencia durante la adolescencia puede tener efectos adversos sobre la función cognitiva (Beard y Connor, 2003), sobre la capacidad de trabajo (Haas y Brownlie, 2001) y sobre el desarrollo motor y mental, originando alteraciones de la conducta (Lozoff, 1988) y perjuicios en la atención de los escolares (Beard y Connor, 2003). La deficiencia de hierro también puede alterar la capacidad de mantener la temperatura corporal en ambientes fríos, relacionada con una disminución de la secreción de hormona estimulante del tiroides y de hormona tiroidea (Beard y col., 1984), reducción de la resistencia a las infecciones (Dallman, 1987), etc.

Los adolescentes presentan riesgo de padecer deficiencia de hierro, no sólo por sus altas necesidades fisiológicas, sino también por sus pobres hábitos alimentarios (Durá Travé y col., 2002; Shamah y Villalpando, 2006), consumiendo frecuentemente comidas tipo “fast-food” o reemplazándolas con *snacks*.

4. TENDENCIAS ACTUALES DE CONSUMO: HÁBITOS ALIMENTARIOS DE LOS ADOLESCENTES

De todos los factores ambientales que pueden influir en el estado de salud, la dieta es el más importante, y esto explica que en las últimas décadas se haya despertado una preocupación creciente por la nutrición y los hábitos alimentarios de la población.

Estudios antropológicos y nutricionales indican que la dieta de la especie humana ha ido cambiando a lo largo de los últimos siglos, siendo, sin embargo, en los últimos 150 años cuando han tenido lugar las variaciones más importantes (Eaton y Konner, 1985). Estudios epidemiológicos recientes constatan que en España se está experimentando un importante cambio en los patrones alimentarios, alejándose progresivamente del saludable modelo Mediterráneo debido a diferentes influencias socioculturales (Bach Faig y col., 2006).

La denominada dieta Mediterránea es quizás uno de los modelos dietéticos con menor morbilidad por enfermedades crónicas y mayor esperanza de vida (Serra-Majem y col., 2004a). Se asocia a un alto consumo de pescado, legumbres, cereales, frutas y verduras, así como a una menor ingesta de grasas, aportadas fundamentalmente por el aceite de oliva (Schroder y col., 2006; Trichopoulou, 2006). Su consumo se relaciona con diversos efectos beneficiosos para la salud: favorece la utilización proteica (Seiquer y col., 2006a) y la formación ósea (Mesías y col., 2006), previene enfermedades crónicas relacionadas con la nutrición, obesidad y sobrepeso, sin afectar de forma importante al Índice de masa corporal (IMC) (Méndez y col., 2006; Trichopoulou, 2006), presenta efectos antioxidantes (Trichopoulou y Vasilopoulou, 2000), un bajo índice de enfermedades cardiovasculares y cáncer (Estruch y col., 2006; Martínez-González, 2006), etc.

Los cambios producidos en la sociedad actual debidos a avances en la agricultura, la ganadería y la tecnología alimentaria, han supuesto mayor disponibilidad de alimentos. Así mismo, los cambios a nivel social (Tojo Sierra y Leis Trabazo, 2003; Ruiz Melo y col., 2006), con un porcentaje cada vez mayor de mujeres que trabajan fuera de casa y una creciente influencia de los medios de comunicación, han conducido hacia hábitos alimentarios poco saludables,

aumentándose el consumo diario de alimentos ricos en grasas, bebidas azucaradas, una insuficiente ingesta de frutas y verduras, etc., que, junto con un estilo de vida sedentario, están ocasionado un gran aumento del sobrepeso y de la obesidad (Aranceta Bartrina, 2006), tanto, que ha sido considerada la epidemia del siglo XXI (Grupo Colaborativo AEP-SENC-SEEDO, 2006).

En los países europeos, la prevalencia de obesidad es de 6-35% (Elmadfa y Weichselbaum, 2005), siendo especialmente importante en niños y adolescentes (Tojo Sierra y Leis Trabazo, 2003; Borrego y col., 2006). En España, la obesidad infantil se ha triplicado en las últimas dos décadas (Alonso y col., 2006), colocando al país en segundo lugar de Europa detrás de Reino Unido (Jiménez, 2006). El estudio enKid realizado en el año 2000, muestra que el 13,9% de la población española de entre 2 y 24 años es obesa (uno de cada siete niños) y el 12,4% tiene sobrepeso. En este grupo de edad la prevalencia de obesidad es superior en varones (15,6%) que en mujeres (12%) (Serra-Majem y col., 2006b).

En España, más de un 50% de la población infantil y juvenil no cumple con las recomendaciones de actividad física, ya que el 70% realiza algún deporte en el tiempo libre menos de dos veces por semana (Román y col., 2006). La disminución de la actividad física en niños y adolescentes está condicionada, en gran medida, por la televisión (Fernández San Juan, 2006). Se ha demostrado una relación directa entre horas de ver televisión y obesidad infantil, debiéndose no sólo al sedentarismo que implica, sino a la adquisición de hábitos alimentarios incorrectos por la influencia de las emisiones. Un estudio realizado sobre la publicidad emitida en la televisión en horario infantil, indicó que el 36,4% de los anuncios correspondían a alimentos y bebidas, de los cuales el 69% eran cereales de desayuno azucarados, refrescos, golosinas, chocolatinas y galletas, un 10,3% correspondía a derivados lácteos y un 0,4% a frutas y verduras (García González y col., 2006). Los datos actuales muestran que los niños españoles pasan una media de 2 horas y 30 minutos al día viendo televisión (Fernández San Juan, 2006) y media hora adicional jugando con videojuegos o conectados a internet (Ministerio de Sanidad y Consumo, 2006). Ver la televisión está inversamente asociado con la ingesta de frutas y verduras, sustituyéndose por el consumo de *snacks* (Boynton-Jarrett y col., 2003) y, en general, de alimentos y/o bebidas con

poca densidad de nutrientes con el fin de satisfacer primeramente las necesidades emocionales o sociales, antes que las nutricionales (Fernández San Juan, 2006).

Los hábitos alimentarios, en general, se adquieren en el entorno familiar, empiezan a formarse desde el nacimiento y se desarrollan en la infancia y, en particular, en la adolescencia (Lepage, 1985). Las costumbres nutricionales adquiridas en la niñez, y afianzadas en la adolescencia, se modifican muy poco en años posteriores, de forma que los hábitos individuales en la mayoría de las personas mayores son prácticamente iguales a los adquiridos en las primeras etapas de la vida (Munro, 1984), por lo que pueden tener un impacto considerable a largo plazo sobre la salud. Además, la actitud hacia los alimentos que desarrollen los adolescentes influirá en la salud de sus propios hijos, y dictará los modelos alimentarios de la siguiente generación (Nicklas y col., 1989).

Los niños son reticentes a probar aquello que no les es familiar, llevándolos a aceptar solamente los alimentos que conocen, bien a través de su propia experiencia, bien a través de los anuncios televisivos (Jiménez, 2006). Distintos estudios realizados entre niños españoles muestran un alto porcentaje en el consumo de alimentos y bebidas entre horas, destacando los dulces, las golosinas y los *snacks* como el segundo grupo alimentario en la contribución al aporte calórico diario, precedidos del consumo de “fast food” (De Cos Blanco y col., 2006; Martínez y col., 2006). Tanto los *snacks* como las comidas rápidas, son hoy aportes básicos en la dieta de los adolescentes (Tojo Sierra y Leis Trabazo, 2003).

Snacks: El comer entre las comidas principales constituye para los adolescentes una parte importante de su estilo de vida. Los *snacks* representan una serie de alimentos variados, generalmente ricos en grasas y azúcares, que pueden ser de tipo líquido, sólido o semisólido, y entre los que figuran bollería y pastelería, chocolates en distinta presentación con o sin leche, frutos secos, helados y batidos, patatas fritas en paquetes o preparaciones sintéticas de alimentos con sabores atractivos (a jamón, a barbacoa, etc.), que suelen venderse en tiendas, cafeterías o se obtienen a través de máquinas expendedoras. Además, se suelen acompañar de bebidas azucaradas (Vilaplana, 2006). En general proporcionan una cantidad alta de energía con poca densidad de nutrientes, por lo

que pueden favorecer el déficit de calcio, hierro, vitamina A, D, etc. y, a la vez, suponer un aporte excesivo de energía, grasas y sodio (Ballabriga y Carrascosa, 2006). El hierro aportado por los *snacks* es mayormente de tipo no hemo y las cantidades de factores potenciadores de su absorción son bajas, de forma que un alto consumo de estos productos por los adolescentes puede condicionar su estatus férrico (Viglietti y Skinner, 1987). A pesar de todo esto, no se debe pensar siempre en los *snacks* como una contribución negativa a la nutrición, sino que su efecto dependerá de la dieta global del adolescente y de la composición en nutrientes del propio *snack*. Debido a que la época de la adolescencia es un período de crecimiento rápido y de gran actividad física, los *snacks* pueden contribuir de un modo positivo a la mayor demanda de energía que el adolescente tiene en este momento (Evans y Cronin, 1986).

En España, el consumo de *snacks* ha aumentado en los últimos años (Tojo Sierra y Leis Trabazo, 2003), pudiendo llegar a suponer incluso un 30% de la ingesta diaria recomendada de energía (Alonso de la Torre y col., 2005). En EEUU los *snacks* han proporcionado en los últimos 20 años un 33% más de las calorías consumidas en niños de 12-18 años (James, 2002; Kelner y Helmuth, 2003). Se calcula que aproximadamente un 45% de los adolescentes en los países occidentales toman al menos 2 veces al día *snacks* de alto contenido calórico y ricos en grasa (Kersting y col., 1998).

Comidas rápidas: Las comidas rápidas o “fast food” también constituyen otro elemento clave en la alimentación de nuestros días, cuyo hábito de consumo va en aumento (Vilaplana, 2006). Se estima que entre un 30 y un 40% de todas las comidas se realizan fuera del hogar y los “fast food” representan el 20% de este mercado (Alimentación sana, 2007). Los adolescentes se identifican con el ambiente del “fast food” por ser informal, poco convencional y con precios asequibles: el adolescente suele ser económicamente débil y los restaurantes de comidas rápidas ofrecen la posibilidad de reunirse con los amigos por poco dinero. Los establecimientos para consumir este tipo de comidas, así como preparar comidas precocinadas para consumir en casa están alcanzando gran popularidad.

En los últimos 20 años, el consumo de comidas rápidas en los chicos ha aumentado desde un 2% de la energía total hasta un 10% (Guthrie y col., 2002). Dicho consumo implica una mayor ingesta de grasas saturadas, carbohidratos totales, azúcares añadidos, menos fibra dietética, vitaminas y minerales (excepto el sodio) y más energía por gramo de alimento (Vilaplana, 2006) La alta densidad energética y la palatabilidad de las grasas promueve el exceso de energía ingerida (Bowman y col., 2004), de ahí que su consumo esté altamente asociado con la obesidad o con el aumento del IMC (Schroder y col., 2006). Además, el consumo de comidas rápidas se relaciona negativamente con la ingesta de calcio, leche y derivados lácteos en los adolescentes (Larson y col., 2006). La repercusión nutricional de este tipo de comidas sobre el adolescente va a depender de la frecuencia de su consumo, del menú que seleccione y de los alimentos que ingiere en su casa y que constituyen el resto de su dieta diaria.

Tanto el consumo de *snacks* como de “fast food” implican la ingesta de productos intensamente procesados y muchas veces recalentados tales como patatas fritas, pizzas, croquetas, bollería, etc., en cuyo procesado se desarrolla la reacción de Maillard, explicada a continuación.

5. REACCIÓN DE MAILLARD

5.1. Descripción y aspectos generales

La reacción de Maillard o de pardeamiento no enzimático, es una reacción producida en los alimentos como consecuencia, principalmente, del tratamiento térmico, que origina cambios en el aroma, color, sabor, propiedades funcionales y valor nutritivo. Ocurre cuando grupos amino de aminoácidos, péptidos o proteínas se recombinan con grupos carbonilos de azúcares reductores o lípidos oxidados, originando los denominados productos de la reacción de Maillard (PRM), que, especialmente en las etapas avanzadas de la reacción, son compuestos de tono oscuro y están asociados al pardeamiento de los alimentos. Actualmente se consumen numerosos PRM en nuestra dieta habitual (Koschinsky y col., 1997), ya sea por el cocinado de los alimentos o por la inclusión en la dieta de productos como el chocolate, caramelo, café, etc., en cuya preparación también se desarrolla la reacción de Maillard. Los PRM también pueden encontrarse en alimentos que no han sido cocinados, como es el caso de los productos almacenados a temperatura ambiente o incluso a bajas temperaturas para su mejor conservación.

La reacción entre azúcares y grupos aminos fue descrita primeramente en 1908 por Ling y Malting, quienes consideraron la formación de color en el proceso de elaboración de la cerveza. En 1912, un médico francés llamado Louis-Camille Maillard, describió una reacción de coloración producida entre azúcares reductores y grupos amino, examinando la reacción ocurrida entre glicina y glucosa y utilizó el término melanoïdinas para describir los pigmentos marrones-negrucos formados (Maillard, 1912a, 1912b). Además, observó que el anhídrido carbónico era uno de los productos resultantes de la reacción. La importancia de su contribución es haber postulado que estas reacciones, que luego tomaron su nombre, se producían tanto en el cocinado de los alimentos como a nivel biológico. En el organismo, la reacción de Maillard es similar a la que ocurre en el procesado de los alimentos, pero transcurre más lentamente y generalmente se relaciona con ciertas patologías y procesos de envejecimiento. Una década más tarde, el químico italiano Mario Amadori determinó el proceso que lleva su nombre y que describe los primeros estadios de la combinación de

los azúcares reductores con los grupos amino primarios pertenecientes a distintas moléculas. Los productos resultantes de esta reacción se llaman “compuestos de Amadori” (Amadori, 1925).

La complejidad y la variedad de los PRM han sido objeto del interés de los científicos en diferentes campos de la investigación (Finot, 1990; Labuza y col., 1994; O’Brien y col., 1998). La importancia de esta reacción química, especialmente por parte de la industria alimentaria, es la frecuencia con que se produce en los alimentos durante procesos como horneado, fritura, tostado, etc., dando lugar a cambios en el color, olor, sabor y textura y, en consecuencia, afectando a las propiedades sensoriales de los alimentos. Los compuestos volátiles formados y los solubles contribuyen al sabor y al olor, mientras que los menos solubles se asocian a la producción de colores y texturas (Rizzi, 1994). Muchos de estos cambios son deseados, como el tostado del café, horneado del pan, fabricación del chocolate, asado y fritura de la carne, etc. (O’Brien y Morrissey, 1989), haciendo al alimento más atractivo para su consumo, aunque también pueden estar relacionados con la aparición de sustancias aromáticas o polímeros pardos indeseados, especialmente durante el almacenamiento (Baltes, 1982), o con disminuciones de las propiedades nutricionales (Namiki, 1988; Friedman, 1996). Los efectos de la reacción de Maillard sobre el valor nutritivo de los alimentos son debidos a las modificaciones químicas de los nutrientes esenciales (efectos directos) y a la influencia de los propios PRM sobre la biodisponibilidad y metabolismo de otros nutrientes (efectos indirectos) (Finot, 1993). Los *snacks* y muchos “fast food” o comidas rápidas, ampliamente consumidos en la dieta habitual de los adolescentes, son alimentos que suelen ser ricos en PRM, de ahí la importancia del estudio del consumo de estos productos sobre ciertas propiedades nutritivas de sus dietas.

El mecanismo de la reacción de Maillard generalmente se divide en tres etapas (Mauron, 1981a):

- **Etapa 1, fase inicial o etapa temprana.** La reacción se inicia mediante condensación entre el grupo carbonilo de un azúcar reductor y el grupo amino libre de un aminoácido, originando la base de Schiff. Ésta se cicla para formar una glicosilamina, producto inestable que rápidamente sufre una reorganización

denominada de Amadori. La principal consecuencia de la etapa temprana es la disminución inicial de la disponibilidad del aminoácido, y, consecuentemente del valor nutritivo, ya que al formarse el compuesto de Amadori, queda bloqueado el grupo amino de la proteína, lo que supone una reducción de su digestibilidad. La importancia de los productos de Amadori para la producción del color marrón fue expuesta por Hodge y Rist (1953), quienes mostraron que si se prevenía este paso de la reacción, el color marrón también era evitado. Dichos productos han sido detectados en alimentos calentados, liofilizados e incluso en los que se conservan almacenados (Mauron, 1981b). En el organismo, la hemoglobina glicosilada es un producto de Amadori típico que se utiliza como medida del grado de control de la diabetes.

- **Etapa 2, fase intermedia.** Se produce cuando las condiciones térmicas son más extremas y da lugar a la formación de compuestos asociados a los aromas de los alimentos cocinados. Dependiendo de las condiciones de la reacción, los productos de Amadori pueden degradarse por distintas vías:

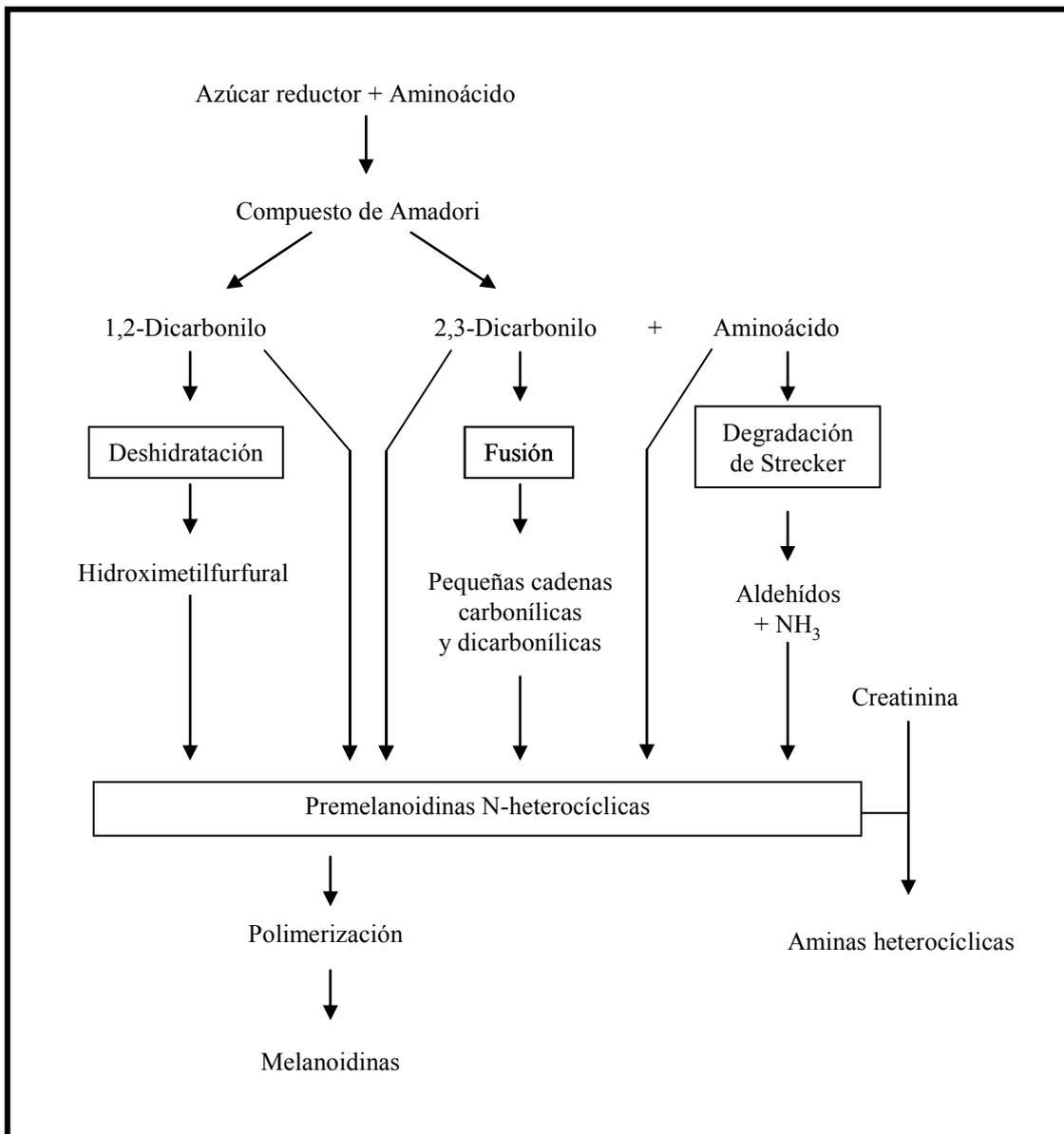
1. Puede observarse una escisión en compuestos carbonílicos, los cuales son altamente reactivos y forman parte de sucesivas reacciones originando aromas característicos. La escisión tiene una velocidad máxima a pH 5,5 (Anet, 1959).

2. Puede haber una fuerte deshidratación, produciéndose una reacción de 1,2 enolización que origina compuestos de tipo furfural y derivados, asociados a la aparición de determinados aromas y colores (Alais y Linden, 1990). Se produce en condiciones de pH 7 o inferior. El hidroximetilfurfural (HMF) es uno de los compuestos formados a partir de esta reacción, aunque también puede derivar del tratamiento con calor de los azúcares (Feather, 1981), está presente en numerosos alimentos procesados, particularmente en la corteza del pan (Ramírez-Jiménez y col., 2000) o en leches esterilizadas (Mulchandani y col., 1979).

3. Si la deshidratación es moderada, se produce una reacción de 2,3 enolización, favorecida a valores de pH superiores a 7 que da lugar a reductonas y dehidrorreductonas. Estos productos pueden sufrir la degradación de Strecker, reaccionando con aminoácidos inalterados y transformándose en aldehídos tras una descarboxilación, liberando átomos de carbono y otros compuestos volátiles que contribuyen al *flavor* de los alimentos. Los átomos de carbono que se liberan

pueden condensarse y oxidarse, conduciendo a la formación de piracinas, importantes componentes del sabor y del olor de los alimentos cocinados, junto con los aldehídos (Shu y Lawrence, 1994; Cremer y Eichner, 2000).

Figura 2.- Esquema general de la reacción de Maillard (Finot, 1993)



- **Etapa 3, fase final o fase avanzada.** Como consecuencia del avance de la reacción de Maillard, en los alimentos se originan una serie de productos denominados genéricamente productos de la reacción de Maillard y productos de

glicosilación avanzada a sus análogos endógenos formados en el organismo (“AGE”, por Advanced Glycosylation End-products) (Vlassara y col., 1984). Muchos de ellos son fluorescentes, presentan color pardo amarillento y resultan del entrecruzamiento con otras proteínas o con otras zonas de la misma proteína (Reynolds, 1963).

Las reacciones darán lugar finalmente a polímeros y co-polímeros nitrogenados de color pardo o negruzco, llamados melanoidinas. Estos compuestos pueden tener pesos moleculares superiores a 1000 Da (Hofmann, 1998), y debido a su gran complejidad química, su aislamiento e identificación es difícil (Fayle y Gerrard, 2002). Son generalmente insolubles en medio acuoso y en disolventes orgánicos, aunque también existen melanoidinas solubles en agua. Tanto estos compuestos como las premelanoidinas, de pesos moleculares más bajos, parece que sólo se absorben parcialmente por el intestino, lo que reduciría sus efectos fisiológicos a nivel metabólico, siendo los niveles de absorción inferiores para las fracciones de mayor peso molecular (Faist y Erbersdobler, 2001).

El esquema general de la reacción química se muestra en la Figura 2.

5.2. Factores que afectan a la reacción de Maillard

El desarrollo de la reacción de Maillard y, por tanto, la modificación de las características organolépticas del alimento, depende de las condiciones en las que se lleva a cabo el proceso, del pH, temperatura, naturaleza y proporción de los reactantes, etc. (O’Brien y Morrissey, 1989). Todos estos factores se describen a continuación.

a) Composición del sistema

La naturaleza del azúcar condiciona, de forma más importante que los aminoácidos, la intensidad de la reacción. Los compuestos de bajo peso molecular tienden a ser más reactivos que los de alto peso molecular. Así, las pentosas son más reactivas que las hexosas (Reynolds, 1963) y los monosacáridos más que los di u oligosacáridos, por tanto, la glucosa es más reactiva que la lactosa (O’Brien y Morrissey, 1989).

También se producen variaciones en la cinética de la reacción cuando se modifica la estructura del azúcar, por ello, la isomaltosa presenta mayor coloración que la maltosa (Kato, 1989).

En alimentos ácidos y durante el calentamiento a temperaturas superiores a 130°C, la sacarosa, que no es un azúcar reductor, se hidroliza liberando glucosa y fructosa, pudiendo participar de este modo en la reacción de Maillard (Cheftel y Cheftel, 1976; Hurrell y Carpenter, 1977).

Existe cierta controversia en relación a la reactividad de la glucosa y la fructosa, de forma que algunos autores afirman que la fructosa es más reactiva que la glucosa (Leong y Wedzicha, 2000), mientras que otros opinan que la glucosa es el azúcar reductor más reactivo (Naranjo y col., 1998; Yeboah y col., 1999).

Maillard (1912a) admitió que la fructosa participaba en reacciones de pardeamiento con aminoácidos a velocidades superiores a las de la glucosa. Esto fue corroborado bajo diversas condiciones por otros autores (Seaver y Kertesz, 1946; Pederson y col., 1947). Sin embargo, cuando la proteína implicada en la reacción es la caseína, la fructosa participa en el pardeamiento con menor velocidad, incluso más lentamente que los disacáridos maltosa y lactosa (Lewis y Lea, 1950).

La naturaleza del componente amino también afecta a la velocidad del pardeamiento. Kroh y Westphal (1989) encontraron que los grupos amino básicos son más reactivos que los ácidos o los neutros. Así, la lisina es más reactiva que otros aminoácidos (O'Brien y Morrissey, 1989; Delgado-Andrade y col., 2004), por tanto, proteínas con mayor concentración de lisina presentarán un pardeamiento más intenso.

Ashoor y Zent (1984) clasificaron los aminoácidos según el grado de pardeamiento producido cuando reaccionaban con la glucosa a diferentes valores de pH, a 121°C, durante 10 minutos, viendo que los más reactivos eran la lisina, glicina, triptófano y tirosina. La cisteína, por el contrario, es el aminoácido que origina menor coloración (Reineccius, 1990).

Con respecto a la reactividad de los péptidos, el pardeamiento aumenta con la longitud de las cadenas, siendo más reactivos que los correspondientes aminoácidos que los componen (De Kok y Rosing, 1994).

Cuando la reacción de pardeamiento tiene lugar en aminoácidos incluidos en una cadena proteica, dicha cadena no se verá afectada en su totalidad, sino que se producirá una selección. No todos los aminoácidos son capaces de reaccionar con los azúcares, ya que pueden estar ocultos en la estructura tridimensional de la proteína, por lo que el grupo amino terminal es el más reactivo, seguido de los aminoácidos básicos y posteriormente de los aminoácidos azufrados (Adrian, 1974; O'Brien y Morrissey, 1989).

La velocidad de la reacción y el grado de pardeamiento parecen variar según la proporción azúcar-aminoácido, produciéndose mayor desarrollo de color cuando la proporción es 1:1 en un sistema glucosa-glicina (Wolfrom y col., 1974), 1:3 en el caso de glucosa-lisina (Warmbier y col., 1976), o 3:2 para un sistema glucosa-metionina (Dworschak y Orsi, 1977).

b) Contenido en humedad y estado físicoquímico del sistema

El agua presente en el sistema es un factor importante para el desarrollo de la reacción de Maillard, influyendo en la velocidad de formación de los compuestos pardos (Reynolds, 1963). La velocidad aumenta exponencialmente con el contenido de humedad debido a un incremento en la movilidad de los reactantes (Labuza y col., 1970). El máximo pardeamiento ocurre con una humedad del 30% (Wolfrom y Rooney, 1953), que corresponde a una actividad de agua de 0,6-0,8, pero a partir de estos valores la velocidad disminuye debido a la dilución en la fase acuosa, ya que si el soluto está disuelto, la reacción entre las moléculas se hace más difícil (Kaanane y Labuza, 1989). Por tanto, la reacción se ve favorecida en un determinado intervalo de humedad (Reineccius, 1990). Fogliano y col. (1999) sugirieron que muestras procedentes de un sistema gluten-glucosa calentadas bajo condiciones de humedad producían más color que bajo condiciones secas, mientras que Adrian (1974) indicaba que el color desaparece en caso de soluciones extremadamente diluidas.

Los alimentos con poca humedad son los más estables frente al pardeamiento, siendo los liofilizados los menos afectados, aunque si la comida liofilizada contiene carbohidratos y aminoácidos y tiene un contenido en humedad suficientemente alto, la reacción de Maillard puede tener lugar, causando cambios en la coloración y en el sabor: los alimentos pasan a color amarillo y posteriormente a marrón, y se origina cierto sabor amargo (Baltes, 1982).

c) pH

El efecto del pH sobre la reacción de Maillard es complejo, ya que cada etapa está favorecida por un determinado valor óptimo (Cheftel y Cheftel, 1976). En general, la velocidad y el grado de pardeamiento aumentan con el incremento del pH (Wolfrom y col., 1953; Martins y col., 2001). La reacción tiene una velocidad mínima a pH 3 (Lea y Hannan, 1949), produciéndose un aumento lineal de pH 3 a pH 8 (Lee y col., 1984) hasta un máximo de pH 10 (Wolfrom y col., 1953; Adrian, 1974) y disminuyendo cuando los valores son más elevados (Ashoor y Zent, 1984). Según Alais y Linden (1990), la zona comprendida entre pH 6 y 8 es la más favorable globalmente.

Durante la reacción desaparecen los grupos amino básicos de los aminoácidos y se forman iones H^+ , por lo que disminuye el pH del sistema y consecuentemente la velocidad de pardeamiento (Ashoor y Zent, 1984). Por esta razón, se considera favorable la presencia de tamponadores para el desarrollo de la reacción.

El pH también tiene una fuerte influencia en el desarrollo del color y de los compuestos volátiles (Kroh y Westphal, 1989; Apriyantono y Ames, 1993). Por ejemplo, el óptimo *flavor* de la carne se produce en la región de pH entre 4-5,5, por tanto, en el caso de los alimentos, el control del pH puede determinar la aparición de determinadas características organolépticas. En la elaboración de los productos de panificación se agregan mejoradores como pequeñas cantidades de NaOH, agente fuertemente alcalino que puede favorecer la generación de los colores deseados. En el caso de la leche, sin embargo, un descenso de pH permite atenuar el pardeamiento durante procesos de deshidratación, evitando modificaciones desfavorables de sus caracteres (Csgastronomía, 2007).

d) Temperatura y tiempo de calentamiento

Las temperaturas elevadas estimulan de forma importante la reacción, pero el calor no es una condición indispensable para su desarrollo, ya que también puede producirse durante los períodos de almacenamiento a bajas temperaturas (Alais y Linden, 1990; Baltés, 1982).

El desarrollo del pardeamiento con el aumento de la temperatura y la duración del tratamiento térmico fue estudiado por Maillard (1912b) y ha sido confirmado en estudios posteriores (O'Brien y col., 1998; Peng y col., 2000; Delgado-Andrade y col., 2004). Un aumento en la temperatura conduce a un incremento de la reactividad entre el azúcar y el grupo amino (Martins y col., 2001).

El grado de la reacción de Maillard y de pardeamiento es muy sensible a la intensidad del tratamiento térmico, siendo los efectos deseables en algunos productos e indeseables en otros. La formación de aromas y sabores está condicionada por la temperatura y el tiempo de calentamiento. Así, a temperaturas intermedias (100°C) se producen *flavores* propios de la cocción, mientras que a temperaturas mayores (150°C) se desarrolla el aroma del asado o tostado (Reineccius, 1990).

El cocinado convencional de los alimentos los somete a altas temperaturas durante un período relativamente largo, por lo que favorece el desarrollo de la reacción de Maillard.

Reineccius y Whorton (1990) mostraron que el cocinado del alimento utilizando el horno microondas no desarrollaba productos pardos, debido a la menor aplicación de temperatura y tiempo con respecto al cocinado convencional. Sin embargo, estudios recientes han comprobado que en este tipo de procesado también tiene lugar la reacción de Maillard (Tessier y col., 2006).

Si los productos se almacenan durante un largo período de tiempo, especialmente bajo condiciones adversas, la reacción de Maillard puede ocurrir causando una reducción del valor biológico de la proteína por la disminución de los aminoácidos disponibles, principalmente lisina (Hurrell y col., 1983). En el tratamiento UHT de la leche son necesarios largos períodos de almacenamiento

(6 meses) a altas temperaturas (30-37°C) para que pueda dar lugar a pérdidas notables de este aminoácido, de hasta un 14% (Möller, 1981).

e) Presión hidrostática

La industria alimentaria utiliza frecuentemente altas presiones para la esterilización de los alimentos, permitiendo mejor conservación del valor nutritivo respecto a los procesos térmicos a presión atmosférica, así como mejores sabores, colores y olores. Además del coste económico, el problema para la industria es la resistencia de ciertos gérmenes a elevadas presiones (Gould, 1995), por lo que es necesario la combinación de presión y temperatura.

En todos los sistemas, la presión puede modificar la reacción química que tiene lugar y, por tanto, influir en el color desarrollado (Ames, 1998). Algunos estudios sugieren que el efecto de la presión sobre la formación de productos pardos está influenciado por el pH, por ello, soluciones acuosas de glucosa-lisina incubadas a 50°C mostraron mayor pardeamiento a pH 6,5 en condiciones de presión atmosférica, mientras que a pH 8,0 y 10,1, el desarrollo del color se favorecía a altas presiones (Hill y col., 1996).

Bristow e Isaacs (1999) admitieron que los compuestos de Amadori se forman más rápidamente en condiciones de altas presiones, pero se descomponen más lentamente, por lo que puede decirse que los productos volátiles derivados de la reacción de Maillard son generalmente deprimidos por la aplicación de altas presiones.

El proceso de extrusión de alimentos es un tratamiento rápido, continuo y homogéneo, donde se aplica al alimento procesado alta presión y temperatura durante un breve espacio de tiempo. Como resultado se obtienen una serie de cambios en la forma, estructura y composición del producto y se originan compuestos volátiles como consecuencia de la reacción de Maillard, responsables, por ejemplo, del olor de los cereales tostados (Bredie y col., 1998). Este método es ampliamente aplicado para la obtención de *snacks* y cereales de desayuno (Koksel y col., 2004; Romarheim y col., 2005).

f) Otros factores que afectan a la velocidad de la reacción

Los *cationes metálicos* poseen un importante papel en la reacción de Maillard: algunos como el Mn^{2+} o Sn^{2+} la inhiben, mientras que otros, como el Cu^{2+} y el Fe^{3+} , por el contrario, la favorecen (Kato y col., 1981; Alais y Linden, 1990). La influencia de los iones sobre la reacción depende de la concentración y del pH del sistema (Rendleman y Inglett, 1990). Ellis (1959) admitió que elementos como cobre, hierro y zinc inhibían el pardeamiento a pH ácido y que el cobalto sólo aceleraba la reacción en soluciones ácidas, pero no lo hacía en soluciones neutras.

Otros compuestos como el *dióxido de azufre* y los *sulfitos* parecen reaccionar con azúcares reductores y productos carbonílicos para producir ácidos sulfónicos derivados, los cuales tienen menor tendencia al pardeamiento (McWeeny, 1982).

Los compuestos carbonilos procedentes de los lípidos oxidados, son también capaces de reaccionar con los grupos amino favoreciendo el desarrollo de la reacción de Maillard (Zamora e Hidalgo, 1995; Seiquer y Navarro, 2003). Cuando los lípidos participan en la reacción, es posible que la presencia de *vitamina E*, debido a su carácter antioxidante reduzca la velocidad (Hermosin y col., 1992).

5.3. Absorción y metabolismo de los productos de la reacción de Maillard de origen alimentario

La mayoría de los datos sobre absorción y tránsito metabólico de los PRM han sido obtenidos a partir de ensayos en ratas, aunque poco se sabe sobre el metabolismo de estos productos en humanos (Somoza, 2005).

Se ha sugerido que los PRM se absorben parcialmente en el intestino y se excretan por la orina en parte modificados o inalterados (Faist y Erbersdobler, 2001), así, los compuestos de Amadori libres, derivados tempranos de la reacción, tales como fructosa-lisina, fructosa-triptófano, fructosa-fenilalanina y fructosa-metionina son bien absorbidos por la rata (20-70%), excretándose en la orina fundamentalmente sin sufrir modificaciones (Perkins y col., 1981). Erbersdobler y Faist (2001) afirmaron que en el hombre no hay captación de los compuestos de Amadori a nivel intestinal, sino solamente absorción por difusión.

Finot y Magnenat (1981) estudiaron en ratas el tránsito metabólico de los compuestos de Amadori unidos a proteínas, observando una absorción alrededor del 12% de la dosis ingerida, mientras que la fracción no absorbida fue metabolizada casi completamente por la flora intestinal. Estudios llevados a cabo en niños, mostraron valores de excreción en orina y en heces alrededor de un 16 y 55% respectivamente, a partir de dosis ingeridas de fórmulas infantiles que contenían glucosa (Niederwieser y col., 1975).

Distintos estudios realizados en ratas consumiendo PRM tempranos, premelanoidinas o melanoidinas de alto peso molecular manifiestan que dichos compuestos son excretados mayormente con las heces, mientras que un menor porcentaje aparece en la orina (Valle-Riestra y Barnes, 1969; Finot y Magnenat, 1981; Homma y Fujimaki, 1981).

Un estudio llevado a cabo con voluntarios sanos que consumieron durante varios días una dieta libre de PRM, donde los alimentos no estaban cocinados, puso de manifiesto que sus orinas presentaban niveles reducidos de PRM comparadas con las procedentes de los mismos individuos consumiendo una dieta rica en productos pardos. Esto sugiere que la mayoría de los PRM observados en la orina son derivados de la dieta, y que la excreción de los mismos ocurre de manera continua (Erbersdobler, 1989).

El hecho de que los compuestos de Amadori puedan atravesar la placenta fue afirmado por Chelius y col. (1976), quienes demostraron la transferencia de fructosa-lisina a la sangre fetal después de su inyección intravenosa en cerdas preñadas. También se ha descrito el paso de los compuestos de Amadori a través de la placenta de ciertos monos. A pesar de estas evidencias, no hay datos relativos a sus repercusiones sobre el feto (Stegink y Pitkin, 1976).

5.4. Aspectos tecnológicos de la reacción de Maillard

a) Modificación de las características organolépticas del alimento

Como se ha mencionado anteriormente, la reacción de Maillard se asocia a la producción de colores, aromas y sabores en el alimento, frecuentemente

buscados por la industria alimentaria y en los tratamientos domésticos para hacer al alimento más agradable y aceptable por el consumidor.

Los compuestos de Amadori son incoloros, pero se consideran precursores del color, ya que su evolución da lugar a la formación de melanoidinas, características del color pardo o negrozco asociado al final de la reacción (Hodge y Rist, 1953). Es a estos compuestos a los que deben su color el pan y los productos de panadería, entre otros alimentos.

El pardeamiento también puede resultar de la caramelización o degradación de los glúcidos, reacción que, con frecuencia, se puede desarrollar simultáneamente a la de Maillard.

Durante la reacción de Maillard se producen compuestos volátiles, habiéndose identificado más de 2000 (Finot, 1990), que son responsables de aromas específicos como el olor a asado o a tostado. Se forman distintas sustancias aromáticas, como los furfuralos y las reductonas, así como los aldehídos, derivados de la descomposición de los aminoácidos en la degradación de Strecker, específicos de este tipo de reacción. En la industria se utiliza dicha degradación para producir los aromas característicos del chocolate, café, miel o pan.

La formación de los compuestos responsables del *flavor* depende, como ya se ha mencionado, del tipo de azúcar y aminoácidos implicados en la reacción y de la temperatura, tiempo, pH y contenido de agua (Jousse y col., 2002). En general, los azúcares tienen menor influencia que los aminoácidos sobre las propiedades sensoriales derivadas. La formación de aromas depende tanto de la naturaleza de los aminoácidos implicados como de la etapa desarrollada. Cada aminoácido puede originar aromas y sabores característicos, favorables o perjudiciales desde el punto de vista sensorial, así, la cisteína originará el sabor relacionado con la carne mientras que la prolina se asocia al sabor típico del pan, del arroz o de las palomitas (Van Boekel, 2006).

El efecto de la reacción de Maillard sobre la textura de los alimentos ha recibido poca atención (Gerrard y col., 2002a). Sin embargo, diversos estudios han sugerido que las modificaciones químicas, asociadas al desarrollo del

pardeamiento, pueden ser importantes para mejorar la masa en los productos de panadería (Gerrard y col., 2002b) o las propiedades del tofu (Kaye y col., 2001).

b) Marcadores de la reacción de Maillard

Se han propuesto diversos marcadores para definir el grado de desarrollo de la reacción de Maillard en alimentos o en sistemas modelo. Así, pueden determinarse principalmente furosina, carboximetilisina (CML), hidroximetilfurfural (HMF) y grado de fluorescencia, entre otros.

La furosina es un producto generado después de la hidrólisis ácida de los compuestos de Amadori, formada en la interacción entre el grupo ϵ -amino de la lisina con la glucosa, lactosa y maltosa (Erbersdobler y Hupe, 1991), induciendo la pérdida del grupo amino (Morales y col., 1996). Puede ser utilizada como marcador temprano de la reacción de Maillard, relacionándose su formación con el daño causado en las proteínas durante las primeras etapas del calentamiento.

Uno de los orígenes de la carboximetilisina son los compuestos de Amadori, y se forma cuando el tratamiento térmico es más severo. Se considera marcador más avanzado de la reacción de Maillard, pudiendo aportar información adicional del daño proteico, tanto en los alimentos como en sistemas biológicos (Thorpe y Baynes, 2002; Erbersdobler y Somoza, 2007).

El hidroximetilfurfural es un compuesto formado durante el desarrollo más avanzado de la reacción de Maillard, derivado de la deshidratación de los productos de Amadori, por lo que su determinación se emplea para evaluar el grado de desarrollo del pardeamiento (Morales y col., 1997).

Los productos de Amadori, después de la deshidratación y escisión, originan reductonas coloreadas así como otros compuestos fluorescentes (Baisier y Labuza, 1992), por lo que la medida de la fluorescencia se usa también para valorar el grado de desarrollo de la reacción de Maillard.

c) Inhibición de la reacción de Maillard

Cuando la reacción de Maillard no es deseable en un alimento puede inhibirse para prevenir la formación de productos pardos y sus consecuentes manifestaciones antinutricionales y toxicológicas.

El dióxido de azufre y los sulfitos, normalmente añadidos como una solución de bisulfito sódico o metabisulfito sódico, afectan a las etapas tempranas de la reacción por su combinación con intermediarios carbonílicos (Wedzicha, 1984), previniendo el pardeamiento, aunque no evitan la pérdida de valor nutritivo debida a la degradación de aminoácidos.

El color formado en sistemas tratados con sulfito es menos rojo y más amarillo que los sistemas no tratados (McWeeny, 1981). A pesar de que controlan el pardeamiento, estos compuestos están sujetos a restricciones debido a sus efectos adversos en la salud, no son teratogénicos, mutagénicos o carcinogénicos en ensayos con animales, pero generalmente no se aceptan para su uso en carnes, alimentos ricos en vitamina B o en frutas y verduras, debido a su posible origen de reacciones alérgicas (Sapers y Hicks, 1989).

La reducción del contenido de los sustratos también puede prevenir el desarrollo de la reacción, ya sea por la disminución de los azúcares o de los grupos amino, como ocurre con la acetilación de los aminoácidos (Friedman y Finot, 1990).

Puede controlarse la actividad del agua en comidas deshidratadas, procediéndose al descenso de la humedad hasta alcanzar niveles muy bajos, o si el alimento es líquido, por dilución o por el descenso del pH o de la temperatura.

Estudios de pardeamiento simulados en cortezas de pan, revelaron que el oxígeno parece ser requerido para reacciones de pardeamiento no enzimático (Ziderman y Friedman, 1985). Estos resultados implican que la utilización de antioxidantes debería suprimir el pardeamiento en las comidas.

5.5. Aspectos biológicos

El desarrollo de los PRM se asocia a distintos efectos positivos y/o negativos, tanto en el alimento como en el organismo, tal y como se describe a continuación.

a) Aspectos fisio-patológicos

a.1. Formación de sustancias antinutritivas y tóxicas

El calor puede inducir la formación de compuestos nocivos durante el desarrollo de la reacción de Maillard, como las aminas aromáticas heterocíclicas o la acrilamida, de ahí que estos compuestos puedan ser considerados como tóxicos (Somoza, 2005).

Distintos estudios han demostrado que el consumo de PRM en ratas provoca alteraciones como disminución de la velocidad de crecimiento (Henry y col., 1948), reducción de la fertilidad en ratas (Adrian y Susbielle, 1975), necrosis hepática (Fink, 1963), agrandamiento del colon (Sgarbieri y col., 1973), hepatomegalia y nefromegalia (Adrian, 1974; Ragot y col., 1992).

a.2. Efectos alergénicos y antialergénicos

Algunas investigaciones se han dirigido a analizar los efectos de los PRM sobre las propiedades alergénicas de los alimentos consumidos (Deshpande y Nielsen, 1987; Burks y col., 1992). Maleki y col. (2000) estudiaron la influencia de la reacción de Maillard sobre la alergia asociada al consumo de cacahuetes tostados, afirmando que el tratamiento térmico aumentaba la alergenicidad de las proteínas del cacahuete. Algunos autores han demostrado que los PRM en la leche se asocian a aumentos de la alergenicidad (Mukoyama y col., 1977; Kaminogawa y col., 1984), aunque otros afirman una reducción de la misma en la leche de vaca (Friedman, 1996) o en las proteínas de soja después de una reacción de glicosilación (Babiker y col., 1998). Friedman (1996) sugirió que la alergenicidad de la leche de vaca disminuía al producirse la reacción de Maillard durante su calentamiento, debido a que los carbohidratos bloquean el lugar de la proteína responsable de sus efectos alergénicos.

a.3. Propiedades antioxidantes

Durante el procesado y el almacenamiento de las comidas, los antioxidantes naturales termolábiles (vitaminas y polifenoles, fundamentalmente), son considerablemente degradados, mientras que las reacciones químicas entre los componentes de los alimentos pueden dar lugar a antioxidantes secundarios (Nicoli y col., 1997), tales como los PRM (Kitts y Hu, 2005).

Una de las primeras observaciones fue descrita por Griffith y Johnson (1957), quienes demostraron que la adición de un 5% de glucosa a galletas les producía un marcado pardeamiento y una mayor estabilidad a la ranciedad. Desde entonces los productos resultantes de la reacción entre compuestos amino y azúcares fueron estudiados por sus propiedades antioxidantes como protectores de la oxidación lipídica de los alimentos (Chuyen y col., 1998).

La actividad antioxidante de los PRM ha sido demostrada en diversos estudios *in vitro* (Morales y Jiménez Pérez, 2004; Delgado-Andrade y col., 2005a) y en ensayos con cultivos celulares (Jing y Kitts, 2004; Valls-Belles y col., 2004), llevados a cabo con sistemas modelo (Jing y Kitts, 2004) o con componentes aislados de alimentos como el café (Delgado-Andrade y col., 2005a) o la corteza del pan (Lindenmeier y col., 2002). Sin embargo, son pocos los estudios *in vivo* realizados en animales (Somoza y col., 2005) y aún más escasos los encontrados en humanos.

Surge la duda de si estos compuestos actúan como antioxidantes en el cuerpo humano después del metabolismo intestinal, absorción y, posiblemente, transformaciones *in vivo* (Somoza, 2005). Un estudio realizado en un grupo de voluntarios consumiendo 5 tazas de café al día confirmó el aumento de antioxidantes a nivel plasmático (Espósito y col., 2003).

a.4. Efecto sobre determinados microorganismos

Diversos estudios han demostrado el efecto antibiótico de los PRM debido a su papel inhibidor del crecimiento de determinados microorganismos *in vitro* (Suortti y Malkki, 1984; De-Lara y Gilliland, 1985; Einarson y col., 1988). Einarsson y col. (1983) encontraron que los productos pardos, obtenidos entre

arginina y xilosa así como entre histidina y glucosa, tenían un efecto inhibitorio sobre el crecimiento bacteriano. Así mismo, los PRM pueden inhibir la actividad de la glicosil-transferasa de *Streptococcus mutans*, el cual tiene un papel activo en el desarrollo de caries dental. Esta inhibición puede reducir la adherencia del microorganismo a la superficie dental (Finot, 1993).

Los productos pardos también pueden interactuar con los microorganismos del tracto digestivo, afectando a la microflora intestinal. En el tracto gastrointestinal tiene lugar el metabolismo de sustancias extrañas y componentes endógenos, por ello, cambios en la composición o integridad de la microflora pueden tener implicaciones toxicológicas (Rowland y Walker, 1983; Rowland y col., 1985). El primero en sugerir la influencia de los PRM sobre la microflora intestinal fue Jemmali (1969), quien demostró una estimulación del crecimiento de lactobacilos in vitro en presencia de PRM de glucosa-glicina.

a.5. Carcinogenicidad, mutagenicidad y antimutagenicidad

Ciertos datos de la bibliografía sugieren efectos mutagénicos o genotóxicos de diferentes mezclas de PRM o melanoidinas. Powrie y col. (1981) observaron la genotoxicidad del sistema arginina-glucosa por un aumento en las aberraciones cromosómicas en células ováricas de hámsters en ensayos in vitro. En los alimentos cocinados se detectó la presencia de productos altamente mutagénicos procedentes de la pirólisis de proteínas y aminoácidos (Sugimura y Nagao, 1979). Nagao y col. (1979) identificaron compuestos mutagénicos en el café, aunque no se encontraron correlaciones cuantitativas con propiedades carcinogénicas. En carnes y pescados fritos y a la parrilla también se han identificado compuestos mutagénicos, principalmente resultantes de aminas heterocíclicas (Arvidsson y col., 1998). Según diversos autores (Bogen, 1994; Starvic y col., 1995) las aminas heterocíclicas representan un potencial factor de riesgo en la etiología del cáncer en humanos.

Otro compuesto, la acrilamida, ha sido clasificado como carcinogénico en roedores y como un probable carcinógeno humano (Johnson y col., 1986), aunque estudios más recientes confirman que la acrilamida ingerida en la dieta no constituye un peligro significativo para la salud humana (Thulesius, 2004).

Por el contrario, otros estudios han sugerido la antimutagenicidad de los compuestos de Maillard (Kim y col., 1986; Yen y col., 1992; Lee y col., 1994), propiedad atribuida a la inhibición de la absorción de mutágenos (Powrie y col., 1986) o a su inactivación a través de la detoxificación de reactivos intermedios (Wenzel y col., 2002).

a.6. Reacción de Maillard “in vivo”

La reacción de Maillard también puede tener lugar en el cuerpo humano, aunque el proceso es más lento debido a las menores temperaturas. Los carbohidratos y las proteínas endógenas pueden reaccionar para formar AGE, como ocurre en la glicación de membranas basales capilares, en el colágeno, en las enzimas, en las proteínas del cristalino del ojo, etc. La acumulación de AGE en los compartimentos tisulares y sanguíneos se asocia con la progresión de varias enfermedades (Somoza, 2005).

La reacción de Maillard in vivo puede estar unida a complicaciones como diabetes (Bucala y col., 1994; Stitt y col., 2002), nefropatías o retinopatías (Forbes y col., 2003; Stitt y col., 2004), desórdenes oculares como formación de cataratas, glaucoma y degeneración macular (Stitt, 2005), impotencia (Jiaan y col., 1995, Seftel y col., 1997), fibrosis pulmonar (Matsuse y col., 1998), enfermedades vasculares (Wautier y Guillausseau, 1998), aterosclerosis (Stitt y col., 1997), o enfermedades neurodegenerativas, incluyendo la enfermedad de Alzheimer (Munich y col., 2003). Se postula que induce el estrés oxidativo con el consecuente daño neuronal (Yan y col., 1994), provoca la muerte celular programada o apoptosis (Min y col., 1999) y está relacionada con el envejecimiento (Monnier y Sell, 1994).

b) Aspectos nutritivos

La reacción de Maillard puede tener repercusiones nutritivas importantes por influir sobre la ingesta y el peso o por modificar el valor nutritivo de los alimentos afectando a proteínas, hidratos de carbono, vitaminas y minerales (Hurrell, 1990; Friedman, 1996; Fayle y Gerrard, 2002).

b.1. Efecto sobre la ingesta y el peso

Además del efecto positivo de los productos pardos sobre la ingesta de alimentos debido a la ya mencionada producción de características organolépticas agradables para el consumidor, diversos estudios han tenido como objetivo observar el efecto negativo de los PRM sobre la ingesta de alimentos y el peso corporal (Knipfel, 1975), aunque esto no siempre ha sido observado (Aspe y col., 1993; Varela y col., 1997).

La disminución del peso corporal mostrada en ratas tras consumir dietas ricas en productos pardos puede atribuirse a la menor ingesta de alimentos (O'Brien y Walker, 1988). Sarriá y col. (2001) observaron un descenso en el peso de ratas que consumieron fórmulas infantiles líquidas esterilizadas en botella respecto a las consumidoras de fórmulas en polvo; la presencia de lactulosa en la leche esterilizada, PRM derivado de la hidrólisis de la lactosa, disminuye la aceptabilidad del sabor y del olor del producto procesado (Burton, 1988), por lo que los altos niveles de lactulosa y PRM en la leche esterilizada comparados con la fórmula en polvo pudieron haber determinado la menor ingesta y por tanto el menor peso corporal (Sarriá y col., 2001). Este carbohidrato puede tener efectos digestivos específicos, como disminución del vaciado gástrico, aumento del contenido del fluido intestinal o incremento de la saciedad (Washington y col., 1998), provocando una disminución del peso corporal cuando se consume en una proporción superior al 1% en la dieta (Nagendra y Venkat Rao, 1992).

Otros estudios indican que animales consumiendo una dieta que contenía caseína-glucosa calentada a diferentes tiempos y temperaturas, presentaron menor ganancia de peso y retraso en el crecimiento (Lipka y Ganowiak, 1993; Chuyen y col., 1991), efecto contrario al encontrado por Furniss y col. (1989), quienes mostraron estabilidad en la ingesta de ratas que consumieron las mismas muestras.

Delgado-Andrade y col. (2006) compararon el efecto del consumo en ratas de PRM procedentes de mezclas calentadas de glucosa-lisina y glucosa-metionina, observando que, en las dos primeras semanas de ensayo, la ingesta de los animales que consumieron los productos pardos procedentes de glucosa-lisina, fue inferior respecto a un grupo control, coincidiendo con la idea de Abu-Dweih

y col. (2000), quienes señalan que la disminución del consumo alimentario aumenta paralelamente al incremento del pardeamiento. El efecto más negativo se produjo en las ratas que consumieron glucosa-metionina calentada durante 30 minutos, ya que además de la presencia de PRM, el exceso de metionina libre en la mezcla pudo disminuir inicialmente la ingesta dietética, hasta lograr una adaptación, tal como sugirieron Benevenga y Steele (1984).

El aumento de los niveles de hidratación de las heces y de diarrea en ratas que consumen carbohidratos pobremente digeribles son descritos por Leegwater y col. (1974), atribuidos normalmente a un efecto osmótico de los carbohidratos no absorbidos en el intestino (Pergolizzi y col., 1977). De la misma manera, el desarrollo de diarrea en animales que consumen PRM es un hecho conocido (Lee y col., 1974), debido a la alta osmolaridad provocada por los PRM y quizás también a la inhibición de los enzimas digestivos (Oste y col., 1983), resultando en un descenso de la disponibilidad de otros componentes de la comida y, como consecuencia, en una disminución del peso de los animales (Lee y col., 1981).

Son abundantes los estudios que han descrito reducciones del crecimiento asociadas al consumo de PRM, debido a la adición a la dieta de PRM procedentes de sistemas modelo aminoácido-azúcar (Furniss y col., 1989; Chuyen y col., 1991) o al consumo de alimentos que han sufrido pardeamiento (Lykken y col., 1986; Lipka y Ganowiak, 1993), aunque existen datos que revelan ausencia de variaciones en el peso (Kitts y col., 1993). El grado de la reducción parece depender de las dosis añadidas (Abu-Dweih y col., 2000), del tipo de reactantes empleados y del tiempo durante el que se administran (Friedman, 1996).

b.2. Efecto sobre las proteínas y aminoácidos

La aplicación de calor al alimento produce desnaturalización de las proteínas, lo cual no implica necesariamente pérdidas nutritivas. La proteína pasa a un estado desnaturalizado a través de una situación intermedia de predesnaturalización (Ledward, 1979), donde las reacciones son reversibles en gran parte. Si el calor aportado es excesivo, el proceso continúa para conducir a una degradación térmica irreversible, con ruptura de los enlaces covalentes.

Un calentamiento suave puede resultar incluso positivo en el alimento debido a la inactivación de factores antinutritivos de naturaleza proteica, como las antitripsinas de las leguminosas o la avidina del huevo, proteína que posee acción antivitaminica por combinarse con la biotina formando un complejo no hidrolizable por los enzimas (Gómez y de la Torre, 1989). El tratamiento térmico moderado, por tanto, puede mejorar la digestibilidad de la proteína dietética (Scanff y col., 1990).

El tratamiento térmico severo deriva en un efecto destructivo de las reacciones inter o intra proteínas, de las reacciones de las proteínas con componentes no proteicos en un alimento o sistema alimentario o incluso de aminoácidos dentro de la propia proteína (Navarro, 1991). La formación de nuevos enlaces inter o intra moleculares puede ocasionar una reestructuración de la molécula que suponga un impedimento estérico para los enzimas digestivos, con la consecuente disminución de la digestibilidad de la proteína y, por tanto, del valor nutritivo del alimento (Ford, 1973).

Durante el desarrollo de la reacción de Maillard en los alimentos se produce la pérdida del valor nutritivo de las proteínas implicadas (Martins y col., 2001). Cuando un aminoácido o parte de una cadena proteica reaccionan en este tipo de procesos, se producen una serie de cambios que afectan a su valor nutritivo: pérdida de disponibilidad de los aminoácidos, destrucción de los mismos, y disminución de la digestibilidad por inhibición de enzimas proteolíticas y glicolíticas (Friedman, 1996).

Esto es especialmente importante en el caso de los aminoácidos esenciales, siendo la pérdida de disponibilidad y la destrucción de la lisina la consecuencia más significativa de la reacción de Maillard (O'Brien y Morrissey, 1989). La lisina es el aminoácido más sensible al tratamiento térmico, hasta el punto de que el daño producido en la proteína como consecuencia del calor se evalúa mediante la determinación de lisina biológicamente no disponible, que es la lisina que tiene bloqueado el grupo ϵ -amino (Erbersdobler, 1983). Inicialmente el contenido de lisina reactiva disminuye, debido a la condensación de este aminoácido con el azúcar reductor, siendo destruida en la etapa más avanzada, cuando se produce la degradación del compuesto de Amadori. La reducción de su disponibilidad causa

daños en la digestibilidad y en el valor biológico de la proteína (Erbersdobler, 1989).

La leche y los productos lácteos son especialmente sensibles al desarrollo de la reacción de Maillard, debido a su alto contenido en lisina y en lactosa, como azúcar reductor, de ahí que se produzcan importantes pérdidas en la disponibilidad de este aminoácido durante el calentamiento de muestras de leche o el almacenamiento de leche en polvo a temperaturas alrededor de 60°C durante varias semanas (Finot, 1993). La disponibilidad de la lisina también puede verse afectada durante el tratamiento térmico de otros alimentos como el pan, las galletas o las pastas.

Dependiendo de la severidad del tratamiento térmico, se producirán también pérdidas significativas de aminoácidos azufrados (Knipfel, 1981; Adrian, 1982), arginina (Lee y col., 1982; Bjorck y col., 1983), triptófano (Dworschak, 1980; Bjorck y col., 1983) e histidina (Lee y col., 1982) en alimentos procesados térmicamente. Después de la lisina, los primeros aminoácidos que reaccionan son la metionina y el triptófano. Éstos son estables en los primeros estadios de la reacción de Maillard, pero reaccionan con los productos de degradación de la lisina, formados en las etapas más avanzadas (Finot, 1993).

La ausencia de pardeamiento no asegura que no se haya originado una cierta pérdida de valor nutritivo, puesto que la degradación de los aminoácidos se produce antes de que se hayan desarrollado los pigmentos que proporcionan color (Hurrell y col., 1983).

La reducción de la digestibilidad de las proteínas se produce porque los péptidos que incluyen aminoácidos modificados no pueden ser hidrolizados por las proteasas o peptidasas, incrementándose, por tanto, las pérdidas de nitrógeno fecal (Finot, 1993). Simonato y col. (2002), al estudiar la disminución de la digestibilidad de la proteína en la corteza del pan, sugieren que existe una reducción en la accesibilidad de las proteasas a su sitio de acción, debido a los agregados formados durante la reacción de Maillard.

Ensayos *in vitro* han comparado el efecto de los PRM sobre la proteólisis de determinados oligopéptidos. Tras una digestión proteolítica, el contenido de metionina y lisina, aminoácidos resultantes de la digestión de oligopéptidos, fue

menor en presencia de productos pardos que en ausencia de los mismos (O'Brien y Morrissey, 1989).

Los PRM de bajo peso molecular tienen un efecto inhibitorio sobre la actividad de la tripsina, carboxipeptidasas A y B, enzimas intestinales como aminopeptidasa N, o citosólicas como glicil-leucina-dipeptidasa y tal inhibición no se produce sobre la pepsina o quimotripsina, aminopeptidasa A o dipeptidilpeptidasa IV intestinales, así como sobre la prolina dipeptidasa citosólica (Oste y col., 1986; Oste y col., 1987).

Son pocos los ensayos realizados in vivo sobre el efecto de la reacción de Maillard en la utilización de la proteína y mucho más escasos en humanos. Un estudio realizado con adolescentes mostró un descenso en la digestibilidad de las proteínas cuando se consumieron dietas ricas en PRM respecto a otras pobres en productos pardos, aunque las diferencias no llegaron a ser significativas en el nitrógeno retenido ni en la eficacia de utilización del mismo tras el consumo de ambas dietas (Seiquer y col., 2006b).

b.3. Efecto sobre los carbohidratos

La pérdida de azúcares durante el desarrollo de la reacción de Maillard ocurre antes y de forma más rápida que la de los aminoácidos (Adrian, 1974). Además, los PRM pueden afectar el proceso digestivo de los carbohidratos debido a la inhibición de la actividad de determinadas enzimas intestinales como las sacaridasas (Finot, 1990).

Lee y col. (1977) observaron una reducción significativa en la actividad de la lactasa, sacarasa y maltasa en la mucosa de ratas que consumieron durante 2 meses una dieta que contenía un 71% de albaricoques pardos o durante 1 mes albúmina de huevo con pardeamiento, aunque este efecto fue aliviado parcialmente tras la suplementación de aminoácidos. Esto sugiere que la reducción de la actividad de las disacaridasas puede deberse, al menos en parte, a la deficiencia de aminoácidos. Igualmente demostraron la inhibición de la actividad de la maltasa en presencia de un sistema glucosa-triptófano.

Gomyo y Miura (1986) mostraron que la administración oral de melanoidinas procedentes de un sistema glucosa-glicina a ratas, incrementaba la actividad

específica de las disacaridasas en el intestino delgado. Además, el aumento de la actividad de sacarasa, maltasa y lactasa después del consumo de estas melanoidinas durante 20 días, estuvo relacionado con la dosis consumida.

Ensayos *in vitro* han demostrado que los PRM de bajo peso molecular inhiben la actividad de disacaridasas como lactasa, maltasa y trehalasa a una concentración de 5-10 mg/ml, mientras que los de alto peso molecular lo hacían a 1,4-2,8 mg/dl (Oste y col., 1985). La α -amilasa no se vio afectada en presencia de un sistema glucosa-lisina (Oste y col., 1983).

A pesar de lo descrito anteriormente, diversos ensayos *in vivo* no han mostrado ningún efecto inhibitorio de los PRM sobre la digestibilidad de los disacáridos (O'Brien y Morrissey, 1989).

b.4. Efecto sobre las vitaminas

Son pocos los estudios encontrados relativos a la acción de los PRM sobre las vitaminas, aunque existen evidencias de posibles pérdidas o destrucciones en presencia de productos pardos. Algunas del grupo B (B_1 , B_6 y B_{12}) y el ácido pantoténico pueden ser reducidas por la acción de las premelanoidinas, como ocurre en el calentamiento progresivo de la leche. Por el contrario, el ácido nicotínico y la biotina son relativamente insensibles a este tratamiento (Finot y Furniss, 1989).

Ford y col. (1983) estudiaron el efecto de la reacción de Maillard sobre la destrucción de las vitaminas en muestras de leche en polvo, observándose que durante el almacenamiento a 60°C se producían pequeñas pérdidas de tiamina, vitamina B_6 y ácido pantoténico, mientras que a 70°C, con el avance del pardeamiento, la destrucción de estas vitaminas junto con la B_{12} era mayor.

b.5. Efecto sobre los minerales

Los productos de la reacción de Maillard pueden comportarse como agentes quelantes de cationes metálicos, formando complejos solubles e insolubles (Rendleman, 1987) que pueden interferir con la digestibilidad y metabolismo de los minerales (Finot, 1993).

En 1956, Petit observó que el cobre se unía a los PRM. Posteriormente, Stegink y col. (1975) verificaron efectos de los PRM sobre el metabolismo mineral en humanos, observando aumentos en la excreción urinaria de zinc en voluntarios sometidos a una administración parenteral de soluciones de aminoácidos o hidrolizados proteicos, esterilizadas en presencia de glucosa. Este efecto no se producía cuando la esterilización de los azúcares y de los aminoácidos se hacía por separado, o cuando las soluciones eran administradas nasogástricamente, lo cual fue igualmente demostrado por Freeman y col. (1975). Años más tarde se observaron efectos similares en la excreción urinaria de hierro y cobre (Stegink y col., 1981).

La influencia de los PRM administrados por vía oral sobre la excreción urinaria de metales fue confirmada por Johnson y col. (1983), quienes observaron una reducción en la retención de ^{65}Zn en sujetos que consumían productos pardos, relacionada con la presencia en la orina de compuestos glicosados capaces de unirse al mineral.

Ensayos realizados en ratas libres de gérmenes mostraron que la retención de calcio, fósforo, magnesio y cobre disminuía tras la ingesta de dietas que contenían productos pardos procedentes de una mezcla calentada de glucosa-glicina (Andrieux y col., 1980), no observándose el mismo efecto en ratas convencionales, posiblemente debido a que la presencia de la flora intestinal eliminaba los efectos producidos por los PRM. O'Brien y col. (1986) detectaron un aumento en las pérdidas urinarias de sodio y zinc en ratas tras la ingesta de productos de glucosa-glutamato, respecto de las que consumieron una dieta control, mientras que en otros ensayos se apreció hiperzincuria en animales después de consumir mezclas calentadas de caseína-glucosa y caseína-lactosa, sin que aparecieran cambios en la retención o en el estatus de este mineral (Finot, 1993).

La ingesta de pequeñas cantidades de aminoácidos libres normalmente no aumenta las pérdidas urinarias de iones metálicos, por lo que puede decirse que los PRM se unen a los metales con mayor fuerza que los aminoácidos de los que derivan y afecta a su eliminación por la orina (O'Brien y Morrissey, 1997).

La formación de complejos con los PRM puede alterar la biodisponibilidad de los minerales (Navarro y col., 2000; Seiquer y col., 2000), por modificar su forma fisicoquímica (especie) en la comida o en el lumen intestinal, por alterar el proceso de absorción o por afectar su normal metabolismo y excreción (Navarro, 2003).

i) Forma fisicoquímica: cambios en la “especiación”

La formación de complejos entre los compuestos de Maillard y los minerales puede modificar la forma fisicoquímica del elemento (especie), conduciendo a una variación en la solubilidad.

O’Brien y Morrissey (1997) demostraron que los PRM, preparados a partir de una mezcla glucosa-glutamato, eran capaces de unir calcio, zinc, cobre y magnesio, ordenándolos según la fuerza de formación de los complejos de la siguiente manera:

magnesio > cobre = calcio > zinc

Ensayos realizados con distintos PRM procedentes de sistemas glucosa-lisina y fructosa-lisina mostraron variabilidad en la unión con el cobre en función de la temperatura de la reacción, tiempo en el que se lleva a cabo, actividad del agua y pH (Wijewickreme y Kitts, 1998).

En presencia de PRM resultantes de una mezcla glucosa-lisina calentada, la solubilidad de algunos minerales, estudiada en condiciones de pH y fuerza iónica similares a las del intestino delgado, presenta diversos cambios dependiendo del elemento. Con distintos tiempos de calentamiento, calcio y magnesio permanecen casi completamente solubles, mientras que los elementos traza hierro, cobre y zinc frecuentemente aumentan su solubilidad con los derivados del menor tiempo de tratamiento térmico, pero posteriormente se insolubilizan tanto más cuanto mayor es el tiempo empleado en el calentamiento de las muestras (Delgado-Andrade y col., 2004).

Además de en sistemas modelo, la formación de complejos con elementos metálicos ha sido estudiada en PRM procedentes de alimentos, como los cereales de desayuno o el café. Whitelaw y Weaver (1988) mostraron una reducción en la

disponibilidad aparente del zinc en cereales tostados a medida que aumentaba la severidad del pardeamiento, debido a la unión del mineral con los productos pardos formados. Johnson (1991) describió, además, que la unión de los PRM con los minerales dependía tanto del grado de pardeamiento como de la naturaleza de la proteína implicada en la formación del producto pardo. En el caso del café, la afinidad de los pigmentos solubles sobre el calcio y el zinc fue baja, siendo mayor para el cobre (Rendleman, 1987) o para el hierro (Homma y Murata, 1994).

ii) Aspectos biológicos

La formación de complejos entre los PRM y los iones metálicos y la consecuente modificación de su forma fisicoquímica, es causa de que estos compuestos puedan ser considerados modificadores de la disponibilidad y del metabolismo mineral, aspectos que se estudian mediante ensayos *in vitro* y ensayos *in vivo*:

- Los *ensayos in vitro* representan una alternativa a los estudios *in vivo* para analizar la disponibilidad de los minerales, aunque O'Brien y Morrissey (1997) afirmaron que la afinidad *in vitro* de los compuestos de Amadori por los iones metálicos puede ser diferente de los efectos *in vivo* sobre la homeostasis mineral. La disponibilidad de un elemento depende de su solubilidad, que se estima por métodos de digestión *in vitro*, aunque con ellos no puede predecirse la magnitud de la absorción (Hurrell, 1997).

Un modelo introducido en estudios de nutrición es la línea celular Caco-2, procedente de adenocarcinoma de colon humano, línea celular que se diferencia espontáneamente en cultivo, donde las células crecen adheridas a un sustrato formando una monocapa que muestra características morfológicas y funcionales de los enterocitos maduros del intestino delgado (Pinto y col., 1983). Cultivos de células Caco-2 en placas bicamerales suponen un modelo idóneo para la investigación *in vitro* del transporte de los nutrientes, como el calcio (Delgado-Andrade y col., 2006) y el hierro (Delgado-Andrade y col., 2004).

- Los *ensayos in vivo* se realizan tanto en animales como en humanos. Los estudios experimentales sobre diversos aspectos de la biodisponibilidad y

metabolismo mineral son practicados mayoritariamente en ratas (Piñero y col., 2000; Toba y col., 2000), siendo idóneas como modelo experimental (Mahoney y Hendricks, 1984), aunque la extrapolación a nuestra especie ha de hacerse con limitaciones.

Los estudios en humanos son escasos y se refieren esencialmente a aspectos digestivos y a la excreción de productos tempranos, aunque el tránsito metabólico de los PRM es poco conocido en el hombre (Erbersdobler y col., 1990).

ii.1. Influencia sobre la digestibilidad mineral

Los complejos formados entre los PRM y los iones metálicos pueden, en algunos casos, mejorar la disponibilidad de los mismos debido a la neutralización de sus cargas, lo cual facilita el transporte a través de la membrana celular (Clydesdale, 1988). En el caso de los PRM avanzados, los compuestos de alto peso molecular no absorbibles, forman complejos insolubles y, por tanto, se reduce la digestibilidad mineral (Navarro, 2003).

Los ensayos con animales han originado diversos resultados, dependiendo del elemento considerado, de los PRM usados, de las condiciones en que son preparados, del método de análisis, etc.

Andrieux y Sacquet (1984) observaron una disminución de la absorción del calcio y del magnesio en el intestino delgado en ratas que consumieron dietas suplementadas con PRM, procedentes de un sistema glucosa-glicina, sin producirse ningún efecto en la absorción del fósforo. A nivel del colon, se detectó un aumento de la absorción del calcio, magnesio y fósforo en ratas convencionales con respecto a ratas libres de gérmenes, posiblemente debido a la ausencia en las últimas de microflora intestinal. Los complejos formados entre los PRM y los minerales pueden ser, al menos en parte, rotos o metabolizados por la microflora entérica, facilitándose así el aumento neto de la absorción mineral (O'Brien y col., 1989).

ii.2. Consecuencias sobre el metabolismo mineral

A pesar de las dudas acerca del efecto de los derivados de Maillard sobre la excreción urinaria de los minerales, algunos resultados confirman que esos valores aumentan en el caso de diversos elementos, especialmente de los traza, después de la administración oral de diferentes PRM. Derivados de glucosa-glutamato, añadidos a la dieta en una proporción del 0,5%, aumentaron la excreción urinaria de zinc, cobre y magnesio sin alterar la del hierro. Los valores de la retención, sin embargo, permanecieron constantes excepto para el zinc, donde la excreción fecal también aumentó (O'Brien y col., 1994).

Furniss y col. (1989) observaron que la excreción urinaria del zinc aumentaba en ratas que consumían una dieta calentada de caseína-glucosa, mientras que en el caso de caseína-lactosa, dicha excreción sólo se inducía en el grupo donde se administraba la mezcla calentada más severamente. Navarro y col. (2000), por su parte, mostraron un aumento del zinc urinario en ratas que consumieron dietas que contenían caseína-glucosa-fructosa calentada. Otros estudios han mostrado una correlación positiva entre las pérdidas urinarias de zinc y los niveles de fructosa-lisina en la orina, sugiriendo que el aumento podría producirse por la degradación de los productos pardos (Finot y Furniss, 1989).

I. Efecto de la reacción de Maillard sobre la biodisponibilidad del calcio

i) Forma fisicoquímica: cambios en la “especiación”

Las modificaciones en la forma del calcio soluble en presencia de PRM, también han sido objeto de estudio por diversos autores.

Rendleman (1986) puso de manifiesto el efecto de los PRM sobre la disponibilidad del calcio en los alimentos, demostrando que la capacidad quelante de estos compuestos para el calcio era mayor en los procedentes del pan tostado que contenía lactosa, respecto a los del pan sin el azúcar. Posteriormente demostró la formación de complejos solubles al añadir calcio al café, si bien, sus pigmentos tenían muy poca afinidad por el calcio y su precipitación únicamente se originaba a concentraciones muy elevadas del catión. Según este autor, el calcio se une a melanoidinas solubles e insolubles derivadas de sistemas modelo

glucosa-glicina, fructosa-glicina o glucosa-histidina, sin embargo, compuestos tempranos como fructosil-lisina no muestran una unión significativa con el calcio, por lo que se sugiere que este elemento sólo se une a melanoidinas de alto peso molecular que no son absorbidas (Rendleman, 1987).

Cuando a una solución de calcio se añade una muestra calentada de caseína-glucosa-fructosa, tienen lugar cambios en la forma fisicoquímica del elemento, ya que una fracción importante del mineral precipita, mientras que el resto permanece soluble, aunque parcialmente en forma no iónica (Aspe y col., 1993). Después de la digestión *in vitro* de esas muestras, un mayor porcentaje de calcio queda insoluble en la mezcla calentada respecto a las muestras crudas, lo cual puede ser debido a los productos formados en las primeras etapas de la reacción de Maillard. Las melanoidinas no solubles pueden actuar como agentes quelantes de cationes y ser responsables del incremento en la insolubilidad del calcio (Seiquer y col., 2001a), lo cual ha sido demostrado previamente para PRM procedentes de una mezcla glucosa-glutamato (O'Brien y Morrissey, 1997).

Delgado-Andrade (2002) estudió la influencia de la presencia de productos pardos generados en sistemas modelo aminoácido-azúcar sobre la solubilidad del calcio, en condiciones de fuerza iónica y pH que simularan las del intestino, de esta manera demostró que la adición a la solución mineral de muestras de glucosa-lisina o glucosa-metionina tanto calentadas como sin calentar, prácticamente no alteraba la solubilidad del elemento. Estos datos concuerdan con los resultados obtenidos por O'Brien y Morrissey (1997), quienes afirmaron que calcio y el magnesio tienen menor afinidad por los PRM que otros iones como cobre o hierro.

ii) Aspectos biológicos

La actividad quelante de los PRM *in vitro* sugiere que la formación de complejos con los minerales puede afectar su biodisponibilidad. Los productos de Amadori, las premelanoidinas y algunas melanoidinas de bajo peso molecular pueden formar complejos solubles con el calcio en el lumen intestinal, mejorando así su absorción y/o modificando su normal metabolismo. Por el contrario,

algunos PRM avanzados pueden disminuir la absorción del calcio (Navarro, 2003).

ii.1. Influencia sobre la digestibilidad

Debido a la capacidad de los PRM para fijar el calcio, la absorción de este mineral puede verse afectada, por una parte, como consecuencia de la unión a compuestos de alto peso molecular, pobremente absorbidos, y por otra, debido a que la unión a premelanoidinas o melanoidinas de bajo peso molecular, absorbidas en mayor medida, podría favorecer su disponibilidad, facilitándose el transporte a través de la membrana celular (Clydesdale, 1988; Faist y Erbersdobler, 2001).

Estudios *in vitro* utilizando células Caco-2 mostraron que la presencia de una mezcla caseína-glucosa-fructosa calentada aumentaba el transporte de calcio soluble respecto a la mezcla sin calentar. Este efecto no fue observado *in vivo*, ya que en estudios de balance en ratas el calcio absorbido y su coeficiente de digestibilidad no variaron con el consumo de PRM procedentes de caseína-glucosa-fructosa calentada (Seiquer y col., 2001a).

Algunos PRM solubles procedentes de una mezcla glucosa-metionina podrían formar complejos de bajo peso molecular con el calcio y favorecer su absorción intestinal aumentando su digestibilidad (Delgado-Andrade y col., 2004; Delgado-Andrade y col., 2006). Estudios *in vitro* confirman esta idea, observándose mayor transporte de calcio en células Caco-2 en presencia de glucosa-metionina calentada (Delgado-Andrade y col., 2006). Por el contrario, la adición de fructosil-lisina (Seiquer y Navarro, 2003) o glucosa-lisina (Delgado-Andrade y col., 2006), no alteró el transporte de calcio en las células.

Algunos PRM serían susceptibles de sufrir modificaciones *in vivo* en el tracto gastrointestinal de hombres y animales por el proceso digestivo, y quizás de forma más importante por la acción de la microflora intestinal. Estos mecanismos podrían modificar la estructura y también afectar la capacidad de los productos pardos de unirse al calcio, lo cual no tendría lugar en los sistemas celulares *in vitro* (Delgado-Andrade y col., 2005b).

Son pocos los datos disponibles acerca del efecto de los PRM sobre la disponibilidad del calcio in vivo, y principalmente se refieren a ensayos de digestibilidad. En 1977, Adrian y Boisselot-Lefebvres demostraron que las melanoidinas podían tener un efecto favorable sobre la absorción intestinal del calcio en ratas, aunque en esa forma el elemento no servía para la formación del hueso, ya que era eliminado por la orina.

Diversos resultados describen que la relación entre los PRM y la absorción y metabolismo del calcio son dispares (O'Brien y col., 1994; Seiquer y col., 2001a). Algunos estudios han mostrado aumentos en la absorción y en la digestibilidad del calcio después del consumo de productos pardos, como los procedentes de glucosa-glicina o xilosa-lisina (Adrian y Boisselot-Lefebvres, 1977), aunque Andrieux y Sacquet (1984) no observaron un aumento significativo en la absorción con las muestras de glucosa-glicina. Otros autores no han encontrado cambios en estos parámetros en ratas que consumían PRM derivados de mezclas calentadas de caseína-glucosa-fructosa (Seiquer y col., 2001a), o glucosa-lisina (Delgado-Andrade y col., 2006).

Como ya se mencionó anteriormente, la absorción del calcio a nivel del intestino delgado disminuyó en presencia de PRM, tanto en ratas convencionales como en libres de gérmenes, efecto compensado con un aumento en la absorción a nivel del colon en las convencionales, debido a que la microflora intestinal, presente en las mismas, puede hidrolizar los PRM, liberando el mineral y facilitando su paso al organismo (Andrieux y Sacquet, 1984). El efecto de la microflora intestinal se relacionaría con la hidrólisis de los productos que favorecería su permeabilidad a través de la mucosa o, según algunos autores, la absorción de los mismos se acompaña de la absorción mineral (Johnson y col., 1979).

El tratamiento térmico asociado al secado y esterilización de las fórmulas infantiles induce la formación de PRM debido a la reacción de la lactosa, abundante en los productos lácteos, con la lisina, produciendo lactulosil-lisina (Hurrell, 1990), posteriormente hidrolizada para generar furosina. Durante este proceso puede afectarse tanto la calidad de la proteína, como la absorción de los minerales, que se vería reducida debido a la formación de complejos entre los

PRM y magnesio, cobre, calcio o zinc ((Hurrell, 1990; O'Brien y Morrissey, 1997).

El calentamiento prolongado durante la esterilización de la leche conduce a la formación de lactulosa, cuyo incremento afecta al sabor del producto haciendo que sea menos aceptado. La elevada cantidad de lactulosa en la fórmula líquida esterilizada condujo a una menor ingesta del producto, y, consecuentemente, a una menor ingesta de calcio que disminuyó la absorción del mineral. Como se mencionó anteriormente, se trató únicamente de un efecto derivado de la inferior ingesta, ya que la eficacia de absorción no disminuyó, sino que aumentó respecto al consumo de la fórmula infantil en polvo (Sarriá y col., 2001).

ii.2. Consecuencias sobre el metabolismo

Según Finot y Magnenat (1981), la homeostasis del calcio in vivo no está influenciada por los compuestos de Amadori *per se*, los cuales son absorbidos y excretados en la orina.

Ensayos in vivo realizados en ratas han mostrado que los productos tempranos, las premelanoidinas o las melanoidinas pueden unirse al calcio formando complejos que permiten su absorción, pero no su utilización metabólica, por lo que se observa un aumento de la excreción urinaria del elemento (Yuan y Kitts, 1994; O'Brien y Morrissey, 1997; Sarriá y col., 2001).

Ratas consumiendo dietas que contenían mezclas de caseína-glucosa-fructosa calentadas mostraron un aumento en la excreción urinaria del calcio y un descenso en la retención del elemento absorbido (Seiquer y col., 2001a).

Adrian y Boisselot-Lefebvres (1977) y O'Brien y col. (1986) también observaron un aumento en la excreción urinaria de calcio en ratas que consumieron PRM procedentes de mezclas calentadas de glucosa-glicina, xilosa-lisina y glucosa-glutamato. Otros estudios, sin embargo, describen que los niveles tanto de excreción urinaria como de retención de calcio tras el consumo de glucosa-glicina permanecieron constantes (Andrieux y Sacquet, 1984).

El aminoácido participante en la reacción de Maillard tiene importantes implicaciones en los productos formados y en sus consecuencias fisiológicas

(Abu-Dweih y col., 2000). Debido a que la excreción urinaria de calcio se relaciona con el contenido de aminoácidos azufrados de la dieta, los PRM derivados de estos aminoácidos, si de alguna manera se metabolizan y eliminan (Homma y Fujimaki, 1981), pueden contribuir al aumento del calcio urinario (Delgado-Andrade, 2002). Así, ratas alimentadas con glucosa-metionina calentada mostraron una disminución de la eficacia de utilización del calcio a nivel metabólico, como consecuencia de un incremento de su excreción urinaria (Delgado-Andrade y col., 2005c).

Según experimentos llevados a cabo en ratas, tanto la retención del calcio como los índices retenido/absorbido y retenido/ingerido tras el consumo de fórmulas infantiles líquidas esterilizadas que contenían PRM fueron menores que tras el consumo de las fórmulas en polvo (Sarriá y col., 2001).

Algunos autores sugieren que tras el consumo de dietas ricas en PRM se produce una distribución anormal del calcio en los tejidos corporales, de esta manera, Delgado-Andrade y col. (2005c) observaron que ratas alimentadas con dietas ricas en productos pardos presentaban una redistribución del calcio hacia órganos no específicos, como el hígado, en detrimento de la cantidad encontrada en los huesos.

Altas dosis de PRM han mostrado nefrocalcinosis en ratas (O'Brien y Walker, 1988), efecto atribuido a la capacidad de algunos derivados de Maillard de incrementar el calcio urinario y la concentración renal de calcio y fósforo, sugiriendo mayor tendencia a la precipitación de fosfato cálcico en el riñón. También podían formarse otras sales como oxalatos, a partir del ácido oxálico producido por el metabolismo de algunos productos pardos (Finot y Furniss, 1989). Los trabajos de Delgado-Andrade y col. (2006) no describen acumulaciones anormales a nivel renal en ratas que consumieron mezclas calentadas de glucosa-lisina y glucosa-metionina.

Por otra parte, se observó una reducción en el peso de los huesos y en su contenido cálcico en ratas alimentadas con dietas que contenían PRM (Delgado-Andrade y col., 2005c). Los fémures de las ratas que consumieron glucosa-lisina y glucosa-metionina calentadas durante 30 minutos a 150°C sufrieron una reducción en la concentración de calcio del 10% y del 25%, respectivamente, que

condujo a una menor relación Ca/P (Delgado-Andrade y col., 2006). Diversos autores han descrito menor fuerza en los huesos de animales que tomaron alimentos pardeados (Gregor y Emery, 1987), así como menores pesos, cenizas y contenido cálcico en huesos de ratas alimentadas con dietas donde la proteína había sido dañada por el calor, afectándose también la concentración de calcio óseo (Yuan y Kits, 1994).

Otro aspecto importante relacionado con los efectos de los PRM sobre el hueso es la posible glicación in vivo que puede producirse a nivel del colágeno (Sajithlal y col., 1999). Según Abraham y col. (1990) y Dunn y col. (1990), el colágeno puede ser un tejido especialmente apropiado para el acúmulo de PRM o de sus análogos endógenos, los AGE, como se demuestra en el aislamiento de histidina-alanina y lisino-alanina en matrices de colágeno óseo calcificadas (Fujimoto y col., 1982a, 1982b). Además, la participación de azúcares derivados de glicosilaciones no enzimáticas en el entrecruzamiento de la matriz proteica puede relacionarse con el envejecimiento (Reiser, 1991; Monnier y col., 1992), frecuentemente asociado con los fenómenos osteoporóticos (Wood, 2000).

II. Efecto de la reacción de Maillard sobre la biodisponibilidad del hierro

i) Forma fisicoquímica: cambios en la “especiación”

Diversos estudios han tenido como objetivo analizar las modificaciones en la forma fisicoquímica del hierro en presencia de PRM, observando los cambios producidos en la solubilidad del elemento; así, Wijewickreme y col. (1999) y Yoshimura y col. (1997) estudiaron la capacidad de los productos pardos derivados de una mezcla glucosa-lisina y glucosa-glicina para quelar el hierro, viendo que la fracción de alto peso molecular poseía mayor capacidad quelante que la de bajo peso molecular.

Delgado-Andrade y col. (2001), utilizando compuestos procedentes de sistemas modelo glucosa-lisina y glucosa-metionina, mostraron que el hierro tenía mayor afinidad in vitro por los PRM insolubles que el zinc. Posteriormente estudiaron la influencia de los productos pardos sobre la solubilidad del hierro, en unas condiciones de fuerza iónica y pH que simularan las del intestino; se apreció que con los PRM más tempranos procedentes del sistema glucosa-lisina

(calentados durante 30 minutos), la solubilidad de este elemento se incrementaba, pero a medida que aumentaba el tiempo de calentamiento, hasta los 90 minutos, esta solubilidad disminuía (Delgado-Andrade y col., 2004).

Glidewell y Glidewell (1993) afirmaron que diversos aminoácidos, entre ellos la metionina, aumentaban la absorción del hierro mediante la formación de complejos solubles con los grupos sulfhidrilos, amino o carboxilos. El calentamiento suave de las muestras glucosa-metionina (30 minutos), disminuyó la metionina libre que favorecía la fracción soluble de hierro, por lo que se incrementó la insoluble, sin embargo, un calentamiento más prolongado (60 minutos), supuso la formación de compuestos solubles que permitieron acomplejar y solubilizar más cantidad de hierro. No obstante, la prolongación del tratamiento supuso la aparición de melanoidinas insolubles, y con ellas, la disminución de la solubilidad del hierro (Delgado-Andrade, 2002).

Las melanoidinas procedentes de sistemas modelo con glucosa tienen significativamente mayor capacidad para unirse al hierro que las derivadas de la lactosa, ya que las primeras poseen cadenas laterales de glucosa y otros residuos ricos en grupos hidroxilos, posiblemente responsables de la mayor afinidad de la unión al hierro (Morales y col., 2005).

Es posible que los efectos antioxidantes atribuidos a los PRM estén relacionados con la capacidad quelante del hierro, ya que éste participa en las reacciones de formación de radicales libres (Yoshimura y col., 1997). Las melanoidinas pueden quelar al hierro formando complejos que impiden el desarrollo de la reacción de Fenton, en la que el H_2O_2 produce radicales OH^\cdot en presencia de Fe^{2+} , lo que explicaría un posible mecanismo para la actividad antioxidante de los PRM. Según diversos autores, los PRM de alto peso molecular poseen mayor capacidad quelante que los de bajo peso molecular (Yoshimura y col., 1997; Seiquer y col., 2006c). Según Kato (1989), los productos pardos tienen un poder reductor tan fuerte como el del ácido ascórbico, tanto que incluso puede atribuirse mayor poder antioxidante a los PRM (Melton, 1983).

La oxidación lipídica es una de las principales causas del deterioro de la calidad de la carne durante su almacenamiento, conduciendo al desarrollo de

aromas y sabores desagradables así como a menor estabilidad y aceptabilidad (Rhee y col., 1996). Dicha oxidación se inicia en el cocinado y continúa durante el almacenamiento, viéndose afectada por factores como la presencia de compuestos pro-oxidantes y antioxidantes (Buckley y col., 1996). El hierro, presente en la carne, puede actuar como catión pro-oxidante: está presente en enzimas implicadas en la peroxidación lipídica, como las lipooxigenasas (Gordon, 2001; Tomchick y col., 2001) y además los niveles de hierro ferroso pueden aumentar durante el cocinado de la carne (Igene y col., 1979), por lo que se considera un factor clave para la estabilidad oxidativa (Zanardi y col., 2000). La formación de complejos entre los PRM y el hierro confiere a estos productos propiedades antioxidantes, controlando la oxidación de los lípidos (Chuyen y col., 1998).

ii) Aspectos biológicos

ii.1. Influencia sobre la digestibilidad

Los PRM pueden interactuar con el hierro y formar complejos, afectando con esto su disponibilidad.

Ensayos *in vitro*, realizados en condiciones intestinales simuladas utilizando células Caco-2, mostraron que la adición de PRM procedentes de mezclas calentadas glucosa-lisina potenciaba ligeramente el transporte de hierro a través de la monocapa celular, aumentándose la captación del mineral por las células de forma proporcional al tiempo de calentamiento (Delgado-Andrade y col., 2004). Cuando los PRM adicionados procedían de un sistema glucosa-metionina, la captación de hierro soluble por las células disminuía a medida que aumentaba la duración del tratamiento térmico (Seiquer y col., 2001b).

Ensayos *in vivo* realizados con ratas que consumieron fórmulas infantiles líquidas esterilizadas en botella, mostraron menor digestibilidad del hierro respecto al consumo de estas fórmulas en polvo, posiblemente debido a que las melanoidinas presentes en las primeras formaron complejos insolubles con el mineral, dificultando con esto su absorción (Sarriá y Vaquero, 2001).

Cuando se utilizó caseína calentada en presencia de glucosa y fructosa como fuente de proteína en la dieta de ratas, no se apreciaron cambios en la absorción del hierro (Aspe, 1992), hecho observado igualmente por Johnson (1991) en ratas que consumieron PRM procedentes de caseína-glucosa.

En diferentes ensayos realizados con ratas que consumieron PRM de glucosa-glicina (Andrieux y Sacquet, 1984), glucosa-lisina (Delgado-Andrade y col., 2000) o glucosa-glutamato (O'Brien y col., 1994), no se produjeron cambios en la digestibilidad del hierro, mientras que sí se observó una disminución en la absorción cuando se administraban mezclas de fructosa-triptófano (Mahalko y col., 1984) o un aumento en la digestibilidad cuando los PRM procedían de glucosa-metionina (Delgado-Andrade, 2002).

Son escasos los estudios realizados referentes al efecto de los PRM sobre la digestibilidad del hierro en humanos. Theuer y col. (1971, 1973) describieron aumentos de la absorción férrica tras la esterilización de fórmulas infantiles, mientras que Johnson y col. (1983) no observaron modificaciones en la disponibilidad del elemento tras el consumo de cereales tostados.

ii.2. Consecuencias sobre el metabolismo

La formación de quelatos de hierro con los PRM puede ser responsable de los cambios que alteran el metabolismo normal del micronutriente.

El hierro es uno de los elementos traza menos afectado en su excreción urinaria cuando se consumen PRM procedentes de diferentes ensayos con distintas condiciones experimentales (Hurrell, 1990; O'Brien y col., 1994). Así, ratas consumiendo mezclas calentadas de glucosa-glicina (Andrieux y Sacquet, 1984), glucosa-glutamato (O'Brien y col., 1994), glucosa-lisina o glucosa-metionina (Delgado-Andrade y col., 2000), no mostraron modificación ni en la excreción urinaria ni en la retención del mineral. Aspe (1992), sin embargo, observó un aumento en el hierro eliminado por la orina cuando las ratas consumieron caseína-glucosa-fructosa como fuente proteica de sus dietas y, paralelamente, se producía una disminución en la eficacia de retención del mineral.

El menor porcentaje retenido/absorbido de hierro obtenido en ratas que consumieron fórmulas infantiles líquidas esterilizadas en botella respecto al consumo de estas fórmulas en polvo, indica mayores pérdidas urinarias de hierro en las primeras, lo que sugiere que los complejos formados entre los PRM y el hierro posiblemente fueron solubles pero no utilizados por el organismo. Esto, unido a la menor eficacia digestiva (% absorbido/ingerido), ocasionó una menor utilización global (% retenido/ingerido) en las fórmulas infantiles líquidas comparadas con las fórmulas en polvo (Sarriá y Vaquero, 2001).

Algunos estudios ponen de manifiesto que el consumo de diversos PRM tiende a alterar la distribución tisular de ciertos minerales, alteraciones que podrían estar relacionadas con los cambios en la funcionalidad de los elementos. Delgado-Andrade y col. (2000) observaron un pequeño descenso en la concentración de hemoglobina en ratas consumiendo dietas que contenían PRM derivados de glucosa-lisina y glucosa-metionina calentada; este descenso del hierro funcional podría estar asociado con un ligero aumento en el contenido del elemento tanto en el hígado como en el bazo. Resultados similares fueron obtenidos por Stegink y col. (1981) en ratas que consumieron PRM respecto a un grupo control, o por Sarriá y Vaquero (2001), al comparar ratas que consumieron fórmulas líquidas infantiles esterilizadas respecto a las que consumieron las fórmulas en polvo.

El riñón de ratas cuyas dietas contenían PRM procedentes de glucosa-lisina y glucosa-metionina, no mostró cambios en el contenido férrico, observado igualmente por O'Brien y Walker (1988), mientras que el intestino delgado contenía concentraciones de hierro superiores comparadas con un grupo control. Esto puede relacionarse con una repleción férrica en los animales, detectada igualmente por los mayores contenidos del elemento en las carcasas de las ratas, que no produce incremento del hierro funcional, ya que, como se ha dicho, la hemoglobina disminuye y el hematocrito se mantiene estable (Delgado-Andrade, 2002).

Datos experimentales de estudios con humanos han confirmado la influencia de los PRM sobre la excreción urinaria del hierro cuando se administran parenteralmente (Freeman y col., 1975). Los autores sugieren que los PRM

podrían ser responsables de la quelación del hierro o afectar al proceso de resorción renal, conduciendo a un aumento de la excreción urinaria del mineral. Sin embargo, la administración oral de estos productos ha producido resultados dispares también en humanos (Johnson, 1991).

Se han descrito una serie de efectos tanto positivos como negativos asociados con los PRM, aunque el balance global de los mismos en el alimento es, sin duda, un balance positivo. El tratamiento térmico de las comidas ha jugado un importante papel en la nutrición humana desde el uso del fuego (De Bry, 1994), por tanto, aunque los compuestos individuales formados durante el procesado de los alimentos puedan tener todos los efectos negativos descritos anteriormente, el conjunto global de los mismos en las comidas no parece aportar desventajas para la humanidad (Somoza, 2005).

Material y Métodos

Material y Métodos

El desarrollo experimental incluyó ensayos in vivo, para estudiar la utilización del hierro y del calcio en adolescentes mediante ensayos de balance y control de diferentes parámetros bioquímicos, y ensayos in vitro, para el estudio de la absorción de dichos minerales utilizando cultivos celulares.

1. ENSAYOS IN VIVO

1.1. Sujetos

Los sujetos fueron seleccionados entre adolescentes varones sanos de la provincia de Granada de 11-14 años, cuyas características fisiológicas, hábitos de vida y nutricionales respondieran a los considerados como normales para este colectivo. Debían carecer de antecedentes familiares de enfermedades de carácter hereditario y ser considerados clínica y analíticamente sanos. No debían consumir ninguna droga, incluidos tabaco y alcohol.

En cumplimiento de los acuerdos de Helsinki, tanto a los adolescentes como a sus padres se les explicó con todo detalle los procedimientos y fines del estudio, obteniéndose posteriormente el consentimiento informado. A continuación, se valoró el estado de salud de los sujetos mediante una evaluación clínico-funcional que incluyó:

- Anamnesis completa adecuada a su edad.
- Encuesta de hábitos de vida y actividad física, con preguntas sobre hábitos nutricionales, tales como si el sujeto come mientras ve la televisión, cuántas veces come con los amigos fuera de casa, alimentos que más y que menos le gustan, etc.

- Valoración antropométrica. Se midieron peso, talla, pliegues cutáneos (bíceps, tríceps, subescapular y suprailíaco), perímetro braquial, talla sentado, relación peso/talla, índice de masa corporal, superficie corporal, densidad grasa y grasa corporal en peso y en porcentaje. Así mismo se determinó el estadio de Tanner de cada uno de los sujetos.
- Valoración analítica. Se realizaron hemograma, perfil bioquímico completo y examen rutinario de orina.

Además se incluyó una encuesta nutricional mediante recuerdo dietético de 24 horas, método más usado para obtener información sobre la ingesta de alimentos consumidos. Se hizo en presencia de un encuestador, que disponía de un manual de fotografías de alimentos y comidas (Montellano Delgado y col., 2000).

Mediante los datos obtenidos se descartaron aquellos sujetos que no cumplían los criterios de selección y se escogieron 21 adolescentes con una edad media de $12,9 \pm 1,1$ años y un estadio de Tanner promedio de $2,5 \pm 1,5$, que fueron distribuidos al azar en dos grupos: **grupo A** (n=11) y **grupo B** (n=10).

1.2. Dietas

En los estudios de intervención nutricional se debe buscar la relación nutrición-salud, pero sin olvidar que la dieta propuesta debe alcanzarse con modificaciones aceptables de los hábitos alimentarios, ya que si no es así, el grado de adhesión no será adecuado. En el presente estudio se diseñaron dietas que se aproximaran en lo posible a las ingestas recomendadas (IR) para este grupo de población (Moreiras y col., 2004), con el fin de satisfacer los requerimientos de los sujetos, pero sin suponer, en lo posible, grandes cambios en sus hábitos nutricionales. Dichos hábitos fueron evaluados mediante el recordatorio de 24 horas, previamente realizado a cada sujeto, y un cuestionario de frecuencia de consumo. También se tuvieron en cuenta datos procedentes de estudios epidemiológicos sobre la dieta habitual de los adolescentes en nuestro país (Serra-Majem y col., 2001).

Se diseñaron dos dietas, ambas equilibradas y ajustadas a los requerimientos nutricionales y, en lo posible, iguales en cuanto a su contenido de energía y

nutrientes. Se emplearon básicamente los mismos alimentos, variando el proceso de preparación culinaria de los mismos y, por tanto, su contenido en productos de la reacción de Maillard, por ejemplo: pollo frito y pollo guisado, patatas fritas y patatas cocidas. Los cambios introducidos en las dietas experimentales respecto a la dieta habitual de los adolescentes fueron fundamentalmente aumentar el consumo de legumbres, cereales, frutas y verduras, así como disminuir la ingesta de grasas y alimentos de origen animal, aproximándose, por tanto, a lo que podríamos considerar como modelo de la dieta Mediterránea.

Las dietas diseñadas fueron:

- **Dieta Blanca (DB):** Exenta, en lo posible, de alimentos con claro desarrollo de la reacción de Maillard, esto es, alimentos fritos, rebozados, asados o tostados, y de aquéllos que, por su normal proceso de fabricación, contienen productos pardos, como la corteza del pan o el chocolate.
- **Dieta Marrón (DM):** De elevado contenido en alimentos que, por su preparación culinaria o fabricación, hayan sufrido pardeamiento, es decir, cereales tostados de desayuno, chocolate, alimentos fritos, rebozados, gratinados, tostados, etc.

Las dietas se diseñaron para un período de 7 días. Cada día incluyó 4 comidas: desayuno, comida, merienda y cena, cuantificando la ingesta media diaria de energía, proteína, grasa, hidratos de carbono, fibra, minerales y vitaminas para el período completo. El menú y los ingredientes de cada plato en las comidas y cenas para cada una de las etapas se ofrecen en las Tablas 3-5.

Tabla 3.- Menú de comidas y cenas preparadas para las distintas dietas ¹

	DIETA BLANCA		DIETA MARRÓN	
	COMIDA	CENA	COMIDA	CENA
LUNES	Cocido andaluz Ensalada mixta Yogur de fresa	Sopa de picadillo Salchichas cocidas con puré de patatas Plátano	Cocido andaluz Ensalada mixta Yogur de chocolate	Sopa de picadillo Hamburguesa con patatas fritas Plátano
MARTES	Ensalada de pasta Pollo guisado con patatas hervidas Pera	Crema de gambas Mero al horno Flan sin caramelo	Ensalada de pasta Pollo frito con patatas fritas Pera	Crema de gambas Croquetas de merluza Flan con caramelo
MIÉRCOLES	Potaje de lentejas Huevos rellenos Arroz con leche sin canela	Ensalada tropical Emperador a la crema con arroz Naranja	Potaje de lentejas Tortilla de patatas Arroz con leche con canela	Ensalada tropical Emperador empanado con arroz Naranja
JUEVES	Menestra de verduras Lomo de cerdo a la sal con patatas hervidas Melocotón en almíbar	Espaguetis con tomate, queso y jamón Plátano	Panaché de verduras Lomo de cerdo a la plancha con patatas fritas Torrija	Macarrones con bechamel gratinados Plátano
VIERNES	Ensaladilla rusa Empedraíllo de alubias con arroz Yogur de fresa	Consomé con fideillos Merluza al horno con patatas cocidas Pera	Empanadillas de atún Empedraíllo de alubias con arroz Yogur de chocolate	Consomé con fideillos Merluza empanada Pera
SÁBADO	Revuelto de patatas, tomate y jamón york Guiso de ternera con patatas y verduras Natillas de vainilla	Sopa juliana triturada Pasta con tomate y queso Plátano	Tortilla granadina Albóndigas a la campesinas con patatas fritas Natillas de chocolate	Sopa juliana triturada Pizza Plátano
DOMINGO	Ensalada mixta Cazuela de arroz Manzana	Crema de verduras Pudding de pescado Natillas de vainilla	Ensalada mixta Paella Manzana	Crema de verduras con picatostes Palitos de merluza Natillas de chocolate

¹ Una porción de pan fue incluida en cada comida y cena: sin corteza en la dieta blanca y con corteza en la dieta marrón

Tabla 4.- Ingredientes de comidas y cenas preparadas para las distintas dietas

4.1.- Lunes

	DIETA BLANCA	DIETA MARRÓN
COMIDA	<ul style="list-style-type: none"> - Cocido andaluz: garbanzos 50 g; pollo 21 g; tocino 10 g; patatas 60 g; judías verdes 18,2 g; calabaza 14 g. - Ensalada mixta: lechuga 30 g; tomates 30 g; cebolla 8,5 g; aceite de oliva 6 g; sardinas en aceite de oliva 25 g. - Yogur de fresa: 125 g. 	<ul style="list-style-type: none"> - Cocido andaluz: garbanzos 50 g; pollo 21 g; tocino 10 g; patatas 60 g; judías verdes 18,2 g; calabaza 14 g. - Ensalada mixta: lechuga 30 g; tomates 30 g; cebolla 8,5 g; aceite de oliva 6 g; sardinas en aceite de oliva 25 g. - Yogur de chocolate: 125 g.
CENA	<ul style="list-style-type: none"> - Sopa de picadillo: pasta 30 g; huevos 20 g; pollo 21 g; jamón serrano 5 g. - Salchichas cocidas con puré de patatas: salchichas 120 g; patatas 150 g; aceite de oliva 12 g. - Plátano: 100 g. 	<ul style="list-style-type: none"> - Sopa de picadillo: pasta 30 g; huevos 20 g; pollo 21 g; jamón serrano 5 g. - Hamburguesa con patatas fritas: hamburguesa 120 g; patatas 120 g; aceite de oliva 12 g. - Plátano: 100 g.

4.2.- Martes

	DIETA BLANCA	DIETA MARRÓN
COMIDA	<ul style="list-style-type: none"> - Ensalada de pasta: pasta 80 g; cebolla 8,5 g; tomates 80 g; aceite de oliva 7 g; huevos 40 g. - Pollo guisado con patatas hervidas: pollo 200 g; aceite de oliva 15 g; patatas 120 g. - Pera: 200 g. 	<ul style="list-style-type: none"> - Ensalada de pasta: pasta 80 g; cebolla 8,5 g; tomates 80 g; aceite de oliva 7 g; huevos 40 g. - Pollo frito con patatas fritas: pollo 200 g; aceite de oliva 20 g; patatas 100 g. - Pera: 200 g.
CENA	<ul style="list-style-type: none"> - Crema de gambas: gambas 15 g; almejas 15 g; calabacín 50 g; tomates 70 g; leche 20 g; harina 10 g; mantequilla 6 g; almendras 10 g. - Mero al horno: mero 150 g; aceite de oliva 15 g. - Flan sin caramelo: 130 g. 	<ul style="list-style-type: none"> - Crema de gambas: gambas 15 g; almejas 15 g; calabacín 50 g; tomates 70 g; leche 20 g; harina 10 g; mantequilla 6 g; almendras 10 g. - Croquetas de merluza: 200 g; aceite de oliva 15 g. - Flan con caramelo: 130 g.

4.3.- Miércoles

	DIETA BLANCA	DIETA MARRÓN
COMIDA	<ul style="list-style-type: none"> - Potaje de lentejas: cebolla 8,5 g; aceite de oliva 10 g; patatas 100 g; lentejas 50 g; puré de tomate 80 g. - Huevos rellenos: huevos 100 g; atún en aceite de oliva 30 g; mayonesa 60 g; puré de tomate 80 g. - Arroz con leche sin canela: 130 g. 	<ul style="list-style-type: none"> - Potaje de lentejas: cebolla 8,5 g; aceite de oliva 10 g; patatas 100 g; lentejas 50 g; puré de tomate 80 g. - Tortilla de patatas: patatas 120 g; huevos 50 g; cebolla 20 g; aceite de oliva 8 g. - Arroz con leche con canela: 130 g.
CENA	<ul style="list-style-type: none"> - Ensalada tropical: lechuga 30 g; endivias 15 g; piña 17 g; melocotón 26 g; maíz 5 g; remolacha 87 g; zanahoria 50 g; aceite de oliva 8 g. - Emperador a la crema con arroz: emperador 125 g; nata 30 g; aceite de oliva 8 g; arroz 50 g. - Naranja: 150 g. 	<ul style="list-style-type: none"> - Ensalada tropical: lechuga 30 g; endivias 15 g; piña 17 g; melocotón 26 g; maíz 5 g; remolacha 87 g; zanahoria 50 g; aceite de oliva 8 g. - Emperador empanado con arroz: emperador 125 g; huevos 20 g; harina 5 g; aceite de oliva 12 g; arroz 50 g. - Naranja: 150 g.

4.4.- Jueves

	DIETA BLANCA	DIETA MARRÓN
COMIDA	<ul style="list-style-type: none"> - Menestra de verduras: coliflor 40 g; judías verdes 91 g; guisantes 20 g; zanahoria 41 g; cebolla 20 g; alcachofa 18 g; aceite de oliva 8 g. - Lomo de cerdo a la sal con patatas hervidas: lomo de cerdo 130 g; patatas 150 g; harina 5 g; aceite de oliva 10 g. - Melocotón en almíbar: 120 g. 	<ul style="list-style-type: none"> - Panaché de verduras: coliflor 40 g; judías verdes 91 g; guisantes 20 g; zanahoria 41 g; cebolla 20 g; alcachofa 18 g; aceite de oliva 8 g. - Lomo de cerdo a la plancha con patatas fritas: lomo de cerdo 130 g; patatas 120 g; aceite de oliva 15 g. - Torrija: pan 30 g; leche 50 ml; azúcar 20 g; canela; aceite de oliva 10 g.
CENA	<ul style="list-style-type: none"> - Espaguetis con tomate, queso y jamón: espaguetis 80 g; tomate con aceite de oliva 100 g; queso 15 g; jamón 30 g. - Plátano: 120 g. 	<ul style="list-style-type: none"> - Macarrones con bechamel gratinados: macarrones 80 g; harina 10 g; mantequilla 6 g; leche 30 g; carne de ternera 30 g; aceite de oliva 7 g; cebolla 20 g. - Plátano: 120 g.

4.5.- Viernes

	DIETA BLANCA	DIETA MARRÓN
COMIDA	<ul style="list-style-type: none"> - Ensaladilla rusa: patatas 150 g; mayonesa 50 g; atún en aceite de oliva 40 g; zanahoria 41 g; guisantes 25 g; aceite de oliva 15 g. - Empedraíllo de alubias con arroz: cebolla 8,5 g; aceite de oliva 10 g; patatas 90 g; alubias 50 g; arroz 20 g; puré de tomate 50 g. - Yogur de fresa: 125 g. 	<ul style="list-style-type: none"> - Empanadillas de atún: 150 g; aceite de oliva 10 g. - Empedraíllo de alubias con arroz: cebolla 8,5 g; aceite de oliva 10 g; patatas 90 g; alubias 50 g; arroz 20 g; puré de tomate 50 g. - Yogur de chocolate: 125 g.
CENA	<ul style="list-style-type: none"> - Consomé con fideillos: caldo de pollo 150 g; fideillos 15 g. - Merluza al horno con patatas cocidas: merluza 130 g; patatas 150 g; aceite de oliva 15 g. - Pera: 150 g. 	<ul style="list-style-type: none"> - Consomé con fideillos: caldo de pollo 150 g; fideillos 15 g. - Merluza empanada: merluza 130 g; huevos 20 g; harina 5 g; patatas 90 g; aceite de oliva 15 g. - Pera: 150 g.

4.6.- Sábado

	DIETA BLANCA	DIETA MARRÓN
COMIDA	<ul style="list-style-type: none"> - Revuelto de patatas, tomate y jamón york: patatas 120 g; huevos 50 g; aceite de oliva 10 g; jamón 30 g. - Guiso de ternera con patatas al vapor y verduras: ternera 150 g; guisantes 30 g; zanahoria 30 g; judías verdes 46 g; tomates 50 g; aceite de oliva 12 g. - Natillas de vainilla: 130 g. 	<ul style="list-style-type: none"> - Tortilla granadina: patatas 120 g; huevos 50 g; cebolla 20 g; aceite de oliva 10 g; jamón 30 g. - Albóndigas a la campesina con patatas fritas: ternera 150 g; huevos 20 g; pan 10 g; harina 10 g; guisantes 30 g; zanahoria 30 g; judías verdes 46 g; tomates 30 g; aceite de oliva 10 g. - Natillas de chocolate: 130 g.
CENA	<ul style="list-style-type: none"> - Sopa Juliana triturada: apio 10 g; remolacha 30 g; puerro 10 g; calabacín 40 g; patatas 50 g; zanahoria 40 g; aceite de oliva 10 g. - Pasta con tomate y queso: pasta 100 g; mantequilla 6 g; puré de tomate 100 g; queso 20 g. - Plátano: 120 g. 	<ul style="list-style-type: none"> - Sopa Juliana triturada: apio 10 g; remolacha 30 g; puerro 10 g; calabacín 40 g; patatas 50 g; zanahoria 40 g; aceite de oliva 10 g. - Pizza: pizza con tomate, queso y jamón 300 g. - Plátano: 120 g.

4.7.- Domingo

	DIETA BLANCA	DIETA MARRÓN
COMIDA	<ul style="list-style-type: none"> - Ensalada mixta: lechuga 30 g; tomates 30 g; cebolla 8,5 g; aceite de oliva 6 g; sardinas en aceite de oliva 25 g. - Cazuela de arroz: arroz 100 g; pollo 51 g; gambas 50 g; calamares 40 g; mejillones 50 g; pimiento rojo 25 g; tomates 13 g; cebolla 17 g; ajo 5 g; aceite de oliva 10 g. - Manzana: 150 g. 	<ul style="list-style-type: none"> - Ensalada mixta: lechuga 30 g; tomates 30 g; cebolla 8,5 g; aceite de oliva 6 g; sardinas en aceite de oliva 25 g. - Paella: arroz 100 g; pollo 51 g; gambas 15 g; pimiento rojo 25 g; tomates 13 g; cebolla 17 g; ajo 5 g; aceite de oliva 8 g. - Manzana: 150 g.
CENA	<ul style="list-style-type: none"> - Crema de verduras: aceite de oliva 10 g; calabacín 25 g; zanahoria 50 g; puerro 15 g; apio 5 g; patatas 75 g; pan 20 g. - Pudding de pescado: leche 100 g; merluza 100 g; huevos 50 g; aceite de oliva 10 g. - Natillas de vainilla: 130 g. 	<ul style="list-style-type: none"> - Crema de verduras con picatostes: aceite de oliva 10 g; calabacín 25 g; zanahoria 50 g; puerro 15 g; apio 5 g; patatas 75 g; pan 20 g. - Palitos de merluza: 200 g; aceite de oliva 15 g. - Natillas de chocolate: 130 g.

Tabla 5.- Composición de desayunos y meriendas

	ETAPA BLANCA	ETAPA MARRÓN
Desayuno	<ul style="list-style-type: none"> ▪ leche entera (250 ml) con azúcar (10 g). ▪ 2 rebanadas de pan de molde sin corteza (40 g) con mantequilla o margarina (10 g). ▪ zumo: 1 envase de 200 ml. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ leche entera (250 ml) con cacao en polvo (20 g). ▪ cereales tipo corn-flakes (30 g). ▪ zumo: 1 envase de 200 ml.
Merienda	<ul style="list-style-type: none"> ▪ leche entera (250 ml) con azúcar (10 g), o batido de vainilla/fresa (200 ml). ▪ bocadillo: 2 rebanadas de pan de molde sin corteza (40 g), con mantequilla o margarina (10 g) y queso para untar (30 g)/ mortadela (30 g)/ paté (25 g). 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ leche entera (250 ml) con cacao en polvo (20 g) o batido de chocolate (200 ml). ▪ bocadillo: pan (80 g) con mantequilla o margarina (10 g) y mortadela (30 g)/ paté (25 g)/ jamón york (30 g), o bien magdalenas u otra bollería (55 g).

Las dietas fueron evaluadas mediante el programa informático “Alimentación y Salud” (ASDE, SA, Valencia, España). Dicho programa contiene en su base de datos las “Tablas de Composición de Alimentos Españoles” (Mataix y col., 1997), que incluyen la composición nutricional de los alimentos usuales en la dieta de nuestro país, así como una extensa base de datos de platos y comidas preparadas. El programa compara los resultados con las ingestas recomendadas para la población española, por estar adaptadas a la situación nutricional de nuestro país y porque la mayor parte de los estudios epidemiológicos nutricionales nacionales las toman como valores de referencia. Según esta evaluación, no se apreciaron diferencias significativas en la composición de energía y nutrientes entre ambas dietas, cuyos valores medios se recogen en la Tabla 6.

1.3. Diseño experimental

El ensayo comenzó con una etapa previa denominada *Etapa Basal*, destinada a conocer la dieta habitual de los adolescentes y a analizar parámetros bioquímicos y antropométricos basales. En esta etapa, los sujetos continuaron consumiendo su **dieta habitual (DH)**, que fue evaluada durante 3 días mediante la combinación de dos métodos:

- *Recordatorio de 24 horas*. En la encuesta se recoge la ingesta de bebidas y alimentos consumidos en las 24 horas previas a la cita con el encuestador.
- *Registro estimado de alimentos o diario dietético*, durante 2 días, uno de ellos festivo. Se considera que el registro de 2 o más días proporciona datos de las variaciones de las ingestas y permite conocer la ingesta usual de un grupo. Los sujetos fueron instruidos previamente para rellenar de forma correcta las hojas de registro diarias, en las que tenían que anotar tanto las bebidas como los alimentos consumidos distribuidos por comidas, especificando la forma de preparación. Siempre que fuera posible, debían pesar los alimentos o, en su defecto, podían estimar las cantidades utilizando medidas caseras tradicionales, como tazas o cucharadas.

Tabla 6.- **Aporte diario de energía y nutrientes a partir de las dietas diseñadas**

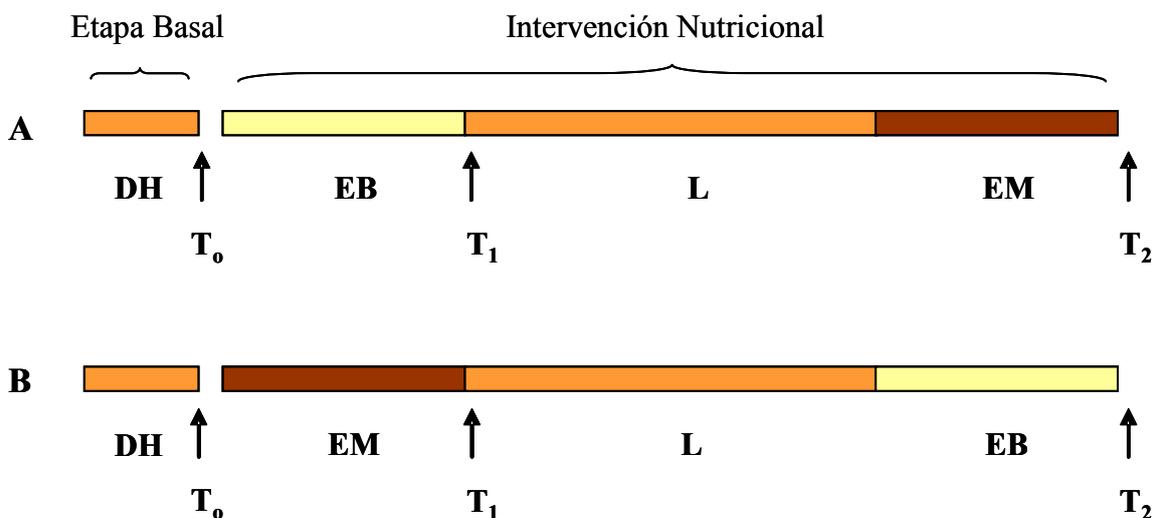
Dieta	DB	DM
Kilocalorías	2495	2559
Proteínas (g)	95,4	90,6
Carbohidratos (g)	307	327
Grasa (g)	106,8	107,6
%E proteína	14,8	13,7
%E carbohidratos	47,8	49,6
%E grasa	37,4	36,7
Fibra (g)	25,0	25,2
AGMI (g)	42,0	46,6
AGPI (g)	12,4	13,9
AGS (g)	21,4	19,2
AGP/AGS	0,58	0,72
AGP/AGM	0,29	0,30
Colesterol (mg)	359	256
Vitamina A (µg)	1453	1390
Vitamina B ₁ (mg)	1,7	1,7
Vitamina B ₂ (mg)	2,2	2,5
Vitamina B ₆ (mg)	2,5	2,6
Vitamina B ₁₂ (µg)	9,9	12,6
Vitamina C (mg)	127	111
Vitamina D (µg)	4,7	3,0
Vitamina E (mg)	12,8	9,9
Niacina (mg)	28,4	28,6
Ácido Fólico (µg)	310	316
Sodio (mg)	1623	2107
Potasio (mg)	3208	3466
Calcio (mg)	1056	1053
Fósforo (mg)	1585	1600
Magnesio (mg)	362	380
Hierro (mg)	16,6	17,6
Zinc (mg)	9,2	8,4

AGMI: Ácidos grasos monoinsaturados. AGPI: Ácidos grasos poliinsaturados. AGS: Ácidos grasos saturados. DB: Dieta Blanca. DM: Dieta Marrón.

A continuación se llevó a cabo la **Intervención Nutricional**, parte fundamental del estudio, mediante un ensayo longitudinal cruzado, en el que cada sujeto era su propio control, según el siguiente esquema:

Cada uno de los grupos de participantes -A y B- pasó por las dos etapas del experimento, de 14 días de duración cada una, llamadas **etapa blanca (EB)** y **etapa marrón (EM)** en las que tomaron las dietas blanca o marrón, respectivamente. Los menús diseñados para 7 días se repitieron dos veces en cada etapa. Entre ambas hubo un período de limpieza de 40 días de duración (L), en el que los adolescentes consumieron su dieta habitual. Uno de los grupos comenzó el experimento por la dieta blanca, mientras que el otro grupo lo hizo por la dieta marrón.

Figura 3.- Esquema del diseño experimental



Al inicio de cada una de las etapas se entregó a los niños un cuadernillo con las normas y recomendaciones específicas para la etapa que iban a comenzar. Se les proporcionó una lista de alimentos “permitidos” en cada una de las etapas, que podían tomar si se quedaban con hambre, así como otra de alimentos “prohibidos”, que bajo ningún concepto deberían consumir. El cuadernillo contenía, además, una hoja de registro diaria en la que debían apuntar: si se dejaban algo de las comidas y cenas especificándolo, lo que desayunaban y

merendaban, si tomaron algo entre comidas, cuántos vasos de agua bebían y si tuvieron algún problema con el menú.

Las comidas y las cenas fueron elaboradas por personal especializado de una empresa de catering (IBAGAR, Granada), de acuerdo con las instrucciones de los investigadores y bajo su supervisión. Fueron distribuidas diariamente al domicilio particular de los participantes durante los días que duró el estudio, y proporcionadas a los investigadores para su posterior análisis.

Los desayunos y meriendas se hicieron según las recomendaciones diarias para cada etapa, con alimentos comprados por los participantes en mercados locales. Los cereales de desayuno fueron repartidos a los participantes, con el fin de unificar y facilitar su consumo.

Para cuantificar de forma correcta el volumen de leche y de agua, se les repartieron vasos de 300 ml de capacidad iguales para todos los participantes. Los adolescentes tenían la opción de cambiar algún alimento del desayuno o la merienda a otro momento del día. Se intentó concienciar a los chicos de la importancia y de los beneficios del estudio, y se les explicó que ambas dietas eran equilibradas, ajustadas a sus necesidades y, por tanto, saludables. Se les aconsejó que cumplieran las dos etapas de la forma más estricta posible, y se insistió en que su colaboración era de enorme importancia para el buen desarrollo del proyecto. En este aspecto, la labor del educador fue muy valiosa e inestimable la colaboración de sus padres.

Las citas en las que los adolescentes debían ir al Hospital, una vez empezado el estudio, fueron un total de tres: la primera al final de la evaluación de la DH (T_0), y la segunda y tercera al final de cada una de las etapas de la intervención nutricional (T_1 y T_2 , respectivamente). En ellas se recogieron las hojas de registro para la determinación de la ingesta de nutrientes, se llevó a cabo la evaluación antropométrica y se recogieron las muestras para el análisis de minerales y parámetros relacionados con el metabolismo mineral (sangre, heces y orina), según se detallará posteriormente.

También se recogieron muestras de agua procedente de la red pública de las distintas poblaciones de residencia de los adolescentes, para la determinación de los minerales, fundamentalmente calcio.

De los 21 sujetos que comenzaron el estudio, uno de ellos no lo finalizó por presentar un cuadro de apendicitis aguda que motivó intervención, suspendiendo el ensayo en la segunda fase.

1.4. Determinación de la ingesta de nutrientes

Las comidas preparadas, servidas diariamente a nuestro laboratorio por el catering, así como los alimentos consumidos en meriendas y cenas, adquiridas en un mercado local, se pesaron, se separó la porción comestible cuando fue necesario y se trituraron utilizando una batidora manual (Taurus, vital CM). Alícuotas de cada plato fueron mezcladas para obtener muestras de comidas y cenas completas. Igualmente, parte de las comidas y cenas fueron mezcladas para obtener muestras de los días completos y éstos a su vez para dar lugar a las etapas completas. Alícuotas de cada comida fueron liofilizadas (liofilizador Génesis SQ 25 EL, Virtis) y almacenadas a -20°C para posteriores determinaciones. La Figura 4 muestra el esquema de tratamiento de las comidas preparadas y de los alimentos consumidos en desayunos y meriendas.

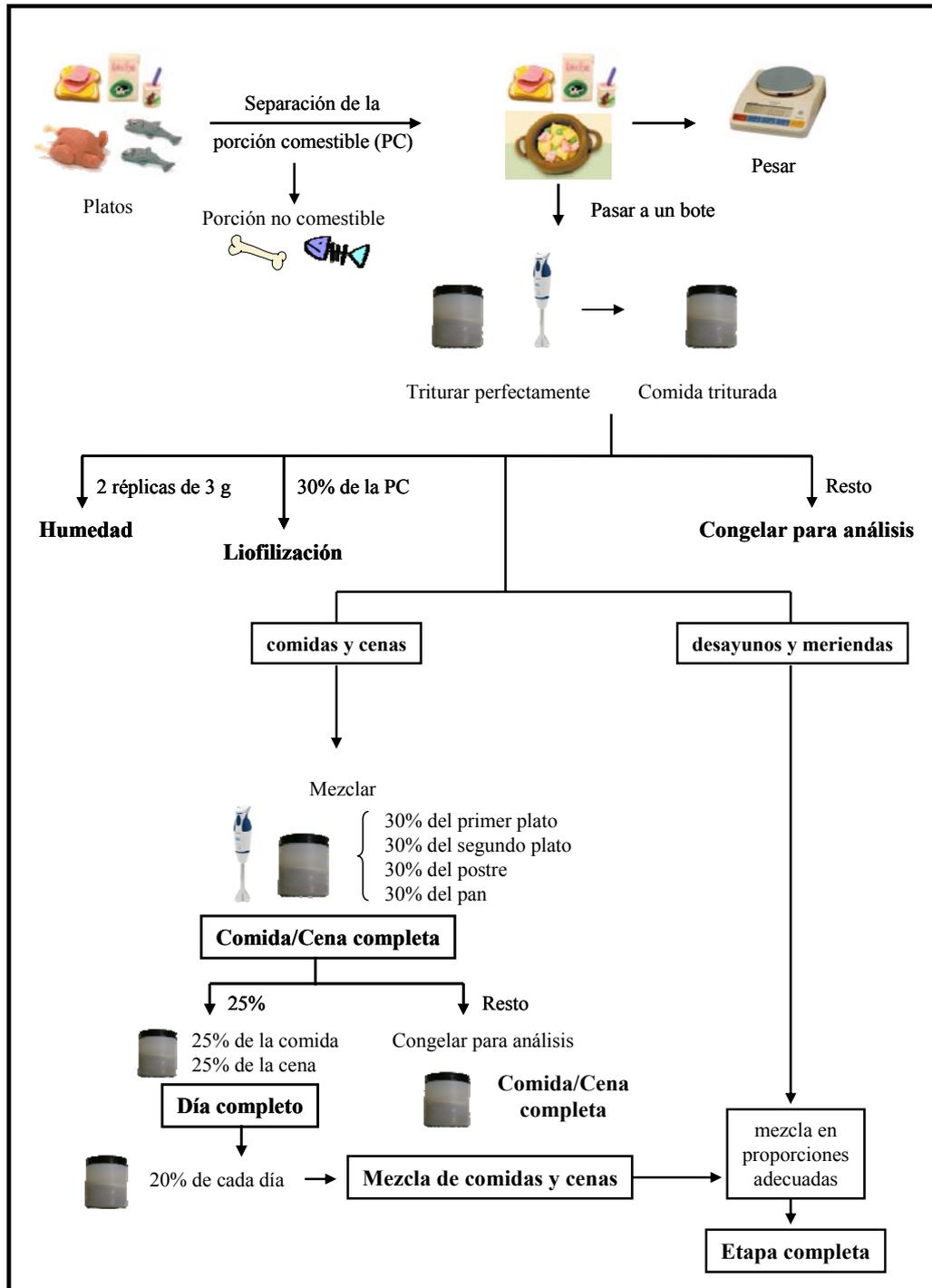
La evaluación de la ingesta de energía y nutrientes de la dieta habitual se realizó mediante Tablas de composición de los alimentos, utilizando el programa informático mencionado. En T_0 se recogió la ingesta de 3 días, tal como se ha descrito previamente.

La evaluación del consumo durante las etapas blanca y marrón se determinó a partir de las hojas de registro diarias contenidas en los cuadernillos, entregadas a los investigadores en T_1 y T_2 . El método consistió, por tanto, en un registro de alimentos o diario dietético, con la salvedad de que los sujetos sólo tenían que anotar lo que tomaban en desayunos y meriendas, o en otro momento del día, pero no en comidas y cenas. En estos casos, sólo debían especificar lo que se dejaban, pesando los alimentos o realizando una estimación utilizando medidas caseras.

Inicialmente se hizo una evaluación mediante el programa informático, al igual que en la dieta habitual y posteriormente se llevó a cabo una segunda evaluación para el calcio y el hierro utilizando datos procedentes del análisis de las dietas en el laboratorio, tal como se describe posteriormente. Sobre la base de

dichos análisis y en función del consumo individual, se calculó la ingesta de calcio y de hierro para cada sujeto, a lo largo de cada uno de los días del período de intervención nutricional y además, la ingesta diaria media para los 14 días de ambas etapas.

Figura 4.- Esquema de tratamiento de las comidas y alimentos



Entre la evaluación informática y la realizada en el laboratorio de las etapas blanca y marrón, observamos ciertas diferencias en los resultados correspondientes a la ingesta de calcio y de hierro, que resultaban infravalorados en la evaluación informática (Mesías y col., 2005). Por ello, la evaluación de la ingesta en la DH fue rectificada en función de las diferencias de cada mineral, con el fin de poder hacer una comparación más adecuada de los balances de calcio y de hierro consumiendo la dieta habitual y las experimentales.

1.5. Recogida de muestras y estudios de balance

Durante los dos días en los que se realizó el registro de alimentos de la dieta habitual y los tres últimos días de cada una de las etapas, los adolescentes recogieron individualmente la *orina* de 24 horas en recipientes con medio levemente ácido entregados previamente. La recogida de cada una de las fracciones de 24 horas comenzó con la segunda micción del día, desechando la primera orina de la mañana y terminando con la primera micción del día siguiente. Se les preguntó a los sujetos si tuvieron algún problema con las recogidas, tales como pérdidas u olvidos. Se midió el volumen total de cada día, se homogeneizó y se conservaron alícuotas a -20°C.

Así mismo, los niños recogieron las *heces* durante los días indicados anteriormente en recipientes adecuados, entregados previamente. Dichas muestras fueron pesadas, diluidas con HCl 6N y homogeneizadas con una batidora manual (Braun MR-5550 CA). Se separaron alícuotas y se congelaron a -20°C hasta el momento del análisis.

Además de ciertos índices bioquímicos en la orina, se determinaron los contenidos de hierro y calcio en dieta, heces y orina, para cuantificar la ingesta y las excreciones fecal y urinaria de cada uno, a partir de las cuales se calcularon los balances de ambos elementos.

✓ **Índices estudiados:**

1. *Absorción aparente (A)*: cantidad ingerida de hierro o calcio (I) menos la cantidad eliminada en heces (F).

$$A = I - F$$

2. *Utilización digestiva o digestibilidad aparente (% A/I)*: porcentaje absorbido del ingerido.

$$\% A/I = ((I-F)/I) \times 100$$

3. *Retención corporal o balance aparente (R)*: cantidad absorbida menos la cantidad excretada en orina (O).

$$R = A - O = I - F - O$$

4. *Eficacia de utilización del hierro o del calcio ingerido*: porcentaje retenido del ingerido.

$$\% R/I = ((I - F - O) / I) \times 100$$

El día siguiente al final de cada etapa y tras un período de ayuno de 12 horas, se obtuvieron muestras de **sangre** de cada sujeto por punción en vena para los análisis bioquímicos y hematológicos indicados posteriormente, utilizando dos tipos de tubos de recogida, unos conteniendo EDTA, para los análisis de sangre completa, y otros sin anticoagulante añadido, libres de minerales, para la obtención de suero. Estos últimos se dejaron reposar durante 30 minutos y fueron centrifugados a 1700 g, 4°C, durante 15 minutos. El suero fue cuidadosamente separado utilizando pipetas Pasteur y congelado a -20°C hasta su posterior análisis.

1.6. Evaluación antropométrica y de la composición corporal

Se realizó en T₀ y T₂. Se controló el peso, la talla, pliegues cutáneos (bíceps, tríceps, subescapular y suprailíaco) y perímetro braquial. Se evaluó la talla sentado, la relación peso/talla, el índice de masa corporal (índice de Quetelet), la superficie corporal, la densidad grasa, la grasa corporal total y el porcentaje graso y la maduración sexual según los estadios de Tanner.

✓ **Peso**

Se utilizó una báscula de precisión con apreciaciones de 100 g; los chicos eran pesados en ropa interior y descalzos.

✓ **Talla**

Esta medida fue llevada a cabo con el tallímetro adaptado a la báscula y con apreciaciones de 1 mm. La medida se hizo con el individuo en posición ortostática, de manera que su espalda, nalgas y talones permanecieran en contacto con el tallímetro y que la cabeza estuviera colocada siguiendo el plano de Frankfurt (plano delimitado por una línea imaginaria que parte de la arcada orbitaria inferior y sigue una línea horizontal que pasa por el borde superior del conducto auditivo externo).

✓ **Pliegues cutáneos**

Se midieron los pliegues bicipital, tricípital, subescapular y suprailíaco con un lipocalibre Holtain de precisión 0,2 mm. Todos los pliegues se midieron del lado no dominante.

- Pliegue bicipital: Se midió en la cara anterior del brazo, en el punto medio del músculo bíceps.
- Pliegue tricípital: Se midió en la cara posterior del brazo en el punto medio entre el olécranon y el acromion.
- Pliegue subescapular: Se midió por debajo del borde inferior de la escápula, tomando el pliegue en una línea que forma un ángulo de 45° con la columna vertebral.

- Pliegue suprailíaco: Se midió en la línea media pectoral a la altura del borde superoanterior de la cresta ilíaca del lado izquierdo.

✓ **Perímetro braquial**

Se midió en la línea media entre el olécranon y el acromion del brazo no dominante con una cinta métrica no extensible.

✓ **Talla sentado**

Esta medida se realizó con el sujeto sentado de forma que exista un ángulo recto entre el tronco y los muslos y entre los muslos y las piernas. La talla sentado será la distancia existente entre la cabeza y la superficie donde se encuentra sentado el individuo.

A partir de estas mediciones se calcularon los siguientes parámetros:

✓ **Relación Peso/Talla**

$$\text{Peso (kg) / Talla (m)}$$

✓ **Índice de Masa Corporal (IMC)**

Este índice fue definido por Quetelet en 1883 y posteriormente fue denominado como *índice de masa corporal* por Keys en 1953:

$$\text{IMC} = \text{Peso (kg)}/\text{Talla}^2 \text{ (m)}$$

✓ **Superficie corporal (SC)**

Calculado aplicando la fórmula de du Bois:

$$\text{SC (cm}^2\text{)} = \text{Peso}^{0,425} \text{ (kg)} \times \text{Talla}^{0,725} \text{ (cm)} \times 71,84$$

✓ **Densidad Grasa (DG)**

Calculado aplicando la fórmula de Brook (1971):

$$\text{DG} = 1169 - 78,8 \times \log (\text{PB}+\text{PT}+\text{PSE}+\text{PSI})$$

✓ **Grasa Corporal Total (GCT)**

Según la fórmula de Lohman (1981), teniendo en cuenta que el peso se expresa en kg y los pliegues del tríceps y subescapular en mm:

$$GCT = 0,135 \times \text{Peso} + 0,373 \times \text{PT} + 0,389 \times \text{PSE} - 3,967$$

✓ **Porcentaje Graso (PG)**

Según la fórmula de Siri (1961):

$$PGC = ((4950 / \text{DG}) - 4,5) \times 100$$

✓ **Estadios de Tanner**

Se evaluaron en función del desarrollo de los caracteres sexuales de cada sujeto, clasificándose desde el estadio I (desarrollo prepuberal) hasta el estadio V (madurez).

2. ENSAYOS IN VITRO

Los ensayos in vitro consistieron en el estudio de la solubilidad del calcio y del hierro tras la digestión in vitro de las dietas y de la absorción intestinal de estos elementos, ensayos llevados a cabo en la línea celular Caco-2, considerada modelo idóneo para el estudio de la disponibilidad mineral (Álvarez-Hernández y col., 1991). Dichos ensayos se realizaron a partir de las muestras de las dietas experimentales (DB y DM), cuya preparación se mencionó en el punto 1.4.

2.1. Digestión in vitro

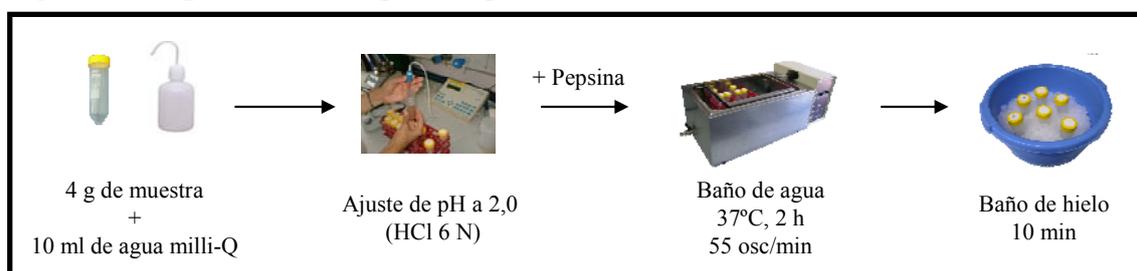
La digestión in vitro se realizó siguiendo la técnica de Miller y col. (1981), modificada para nuestros requerimientos. Dicha técnica consta de dos fases: digestión gástrica y digestión intestinal.

- *Digestión gástrica:*

Se pesaron, por duplicado, 4 g de cada muestra en tubos de centrífuga de 50 ml y se adicionaron 10 ml de agua desmineralizada y desionizada (Milli-Q Ultrapore Water System, Millipore Corp., Bedford, Mass, USA). Se

homogeneizaron y se les ajustó el pH a 2,0 (PHM250 Ion Analyzer, Radiometer) con HCl 6 N. A continuación se añadió una solución de pepsina, 0,8 g de pepsina (Sigma) en 5 ml de HCl 0,1 N, en la proporción 15,9 mg de pepsina / g de muestra diluida. Una vez añadido el enzima, los tubos se incubaron a 37°C en un baño de agua con agitación constante (55 oscilaciones/minuto) durante 2 horas. Seguidamente, los digeridos se introdujeron en un baño de hielo durante 10 minutos para interrumpir la actividad enzimática (Figura 5).

Figura 5.- Esquema de la digestión gástrica

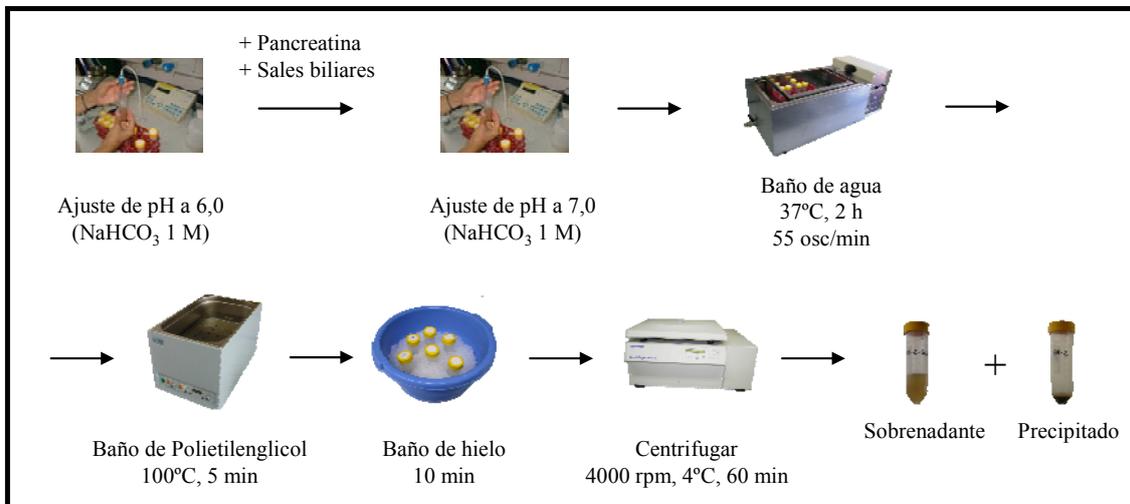


- *Digestión intestinal:*

El pH del digerido gástrico se ajustó a 6,0 con NaHCO₃ 1 M. A continuación, se adicionaron 0,9 ml / g de muestra diluida de una solución de pancreatina y sales biliares (0,1 g de pancreatina (Sigma) y 78 mg de sales biliares (Sigma) en 25 ml de NaHCO₃ 0,1 M). Se ajustó el pH a 7,0 con NaHCO₃ 1 M y se incubaron en el baño de agua con agitación constante durante 2 horas.

Una vez finalizada la digestión intestinal, los digeridos se calentaron durante 4-5 minutos en un baño de polietilenglicol a 100°C con el fin de inactivar las enzimas y seguidamente las muestras se introdujeron de nuevo en un baño de hielo durante 10 minutos para detener el proceso. A continuación se centrifugaron a 4000 rpm, 4°C, durante 60 minutos (5810R, Eppendorf), con lo que se separaron sobrenadante y precipitado, a partir de los cuales se calculó la fracción mineral soluble e insoluble.

Figura 6.- Esquema de la digestión intestinal



Los sobrenadantes obtenidos tras la digestión in vitro, fueron utilizados para los ensayos con los cultivos celulares, tras ajustar la glucosa a 5 mM (medidor de iones EML105GLM, Radiometer), la osmolaridad a 310 mOsm/kg (OSMOMAT 030-D, Gonotec), el pH a 7-7,4 y la concentración de HEPES a 50 mM, con el fin de no alterar la integridad de la monocapa celular y la viabilidad de las células Caco-2. Alícuotas de los sobrenadantes ajustados fueron mineralizadas para la determinación de hierro y calcio por espectrofotometría de absorción atómica (EAA).

2.2. Ensayos con cultivos celulares

a) Células Caco-2

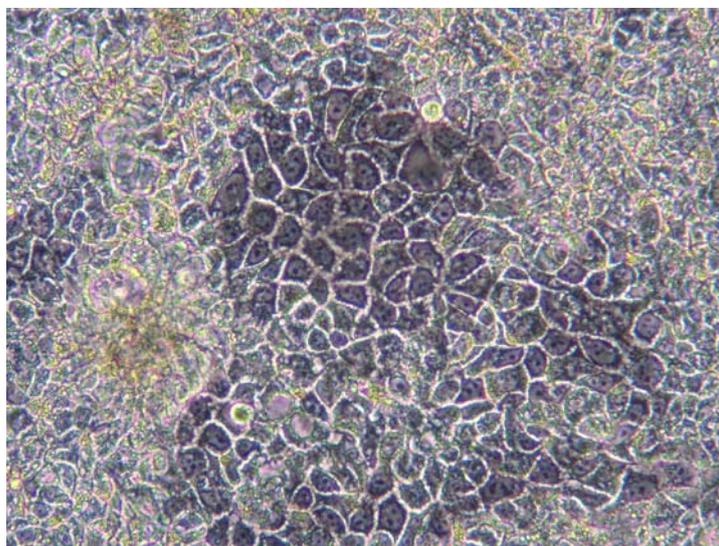
Las células Caco-2 fueron suministradas por la Colección Europea de Cultivos Celulares (ECACC) a través del Centro de Instrumentación Científica de la Universidad de Granada en el pase número 40, utilizándose en estos ensayos entre los pases 50-60. El medio de cultivo para el mantenimiento de las células, así como los reactivos adicionados para su reconstitución y para los ensayos fueron suministrados por Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA), todos ellos específicos para cultivos celulares. Los recipientes para el cultivo eran de la marca comercial Corning Costar (Cambridge, M.A., USA).

Inicialmente, las células se sembraron en frascos de poliestireno (falcon) de 75 cm² de superficie tratados para cultivos celulares, conteniendo medio esencial mínimo de Dulbecco, enriquecido en glucosa (DMEM, Dulbecco's Modified Minimal Essential Medium), cuya composición es la siguiente:

- DMEM en polvo (Sigma D-5648)
- CO₃HNa (S-5761) 35 mM
- Suero Bovino Fetal inactivado (F-7524) 15%
- Aminoácidos no esenciales (M-7145) 1%
- Mezcla antibiótico / antimicótico (A-9909) 1%
- Insulina Bovina (I-6634) 0,1 U.I. / ml
- HEPES (H-2387) 15 mmol / l

Las fotografías 1 y 2 muestran el aspecto de los cultivos y su adecuado desarrollo.

Foto 1.- **Monocapa de células Caco-2 en confluencia en estructura típica de mosaico (microscopía óptica)**



Las células fueron mantenidas a 37°C en un incubador (modelo 3111, Forma Scientific Inc., USA), en atmósfera 95:5 aire/CO₂ y con una humedad del 90%. El medio de cultivo se cambió cada 2-3 días, procediéndose a la tripsinización y

siembra de las células en frascos nuevos cuando se alcanzaba una confluencia aproximada al 70%.

Foto 2.- Desarrollo de microvellosidades de las células Caco-2 (microscopía electrónica)



Para la tripsinización, las células se lavaron con HBSS (Hank's balanced salt solution) (Sigma H-2387) exenta de Ca y Mg, seguido del tratamiento con tripsina (0,25%) y ácido etilendiaminotetraacético (2 mM) (T-3924) durante 5 minutos. Después de que la monocapa celular fuera ligeramente despegada de la superficie del frasco, se adicionó medio de cultivo completo para detener la tripsinización, se homogeneizó la suspensión suavemente con pipeta pasteur y se trasladó a tubos de centrifuga de 50 ml. Las células fueron centrifugadas a 850 rpm, 20°C, durante 5 minutos, y una vez obtenido el pellet o botón celular, se desechó el sobrenadante y se resuspendieron en DMEM, distribuyéndose en los nuevos frascos para continuar el crecimiento celular.

Todas la manipulaciones de los cultivos celulares se llevaron a cabo en condiciones de asepsia y bajo campana de flujo laminar (Modelo AV-100 Telstar, España) con el fin de mantener las condiciones estériles.

b) Ensayos de viabilidad celular

Previo a los ensayos de captación y transporte de minerales en placas bicamerales, se comprobó que las muestras a ensayar no afectaban la viabilidad celular, utilizando el método de tinción con azul trypan. Para ello, las células obtenidas tras la tripsinización, se sembraron en placas petri de 9,2 cm² de superficie a una densidad de 40.000 células/cm², con cambios de medio de cultivo cada 2-3 días. Transcurridos unos 10 días, se incubaron las placas durante 2 horas con los sobrenadantes ajustados procedentes de la digestión in vitro (punto 2.1.). Tras la tripsinización, una alícuota de la suspensión de células fue mezclada al 50% con colorante azul trypan, que tiñe las células no viables. La mezcla fue depositada en una cámara de Neubauer y se realizó el conteo de células viables y no viables en un microscopio invertido (CK40, OLYMPUS). La viabilidad en las soluciones utilizadas en los ensayos nunca fue inferior al 85%.

c) Ensayos de transporte de hierro y calcio

Para los ensayos de captación y transporte, las células obtenidas tras la tripsinización, se sembraron en placas bicamerales (Transwell, 24 mm de diámetro, 4,7 cm² de superficie, 3 mm de tamaño de poro, núm. Ref. 1414, Costar) a una densidad de 100.000 células/cm², con 2,5 ml de medio de cultivo en el compartimento basolateral y 1,5 ml de medio en el compartimento apical. El medio se cambió cada 2 días y los experimentos se realizaron tras 21 días desde la siembra. Durante todo este período, cada 2-3 días se comprobó la formación de estrechas uniones celulares durante la diferenciación y, por tanto, la integridad y confluencia de la monocapa.

Integridad y confluencia de la monocapa

Se comprobó a través de la medida de la resistencia eléctrica transepitelial (TEER) y del transporte del rojo fenol.

✓ La **resistencia eléctrica transepitelial** indica la resistencia de la monocapa de células al paso de la corriente eléctrica, y su aumento y estabilidad confirman la formación de una monocapa íntegra con estrechas uniones entre las

células. Valores anormalmente bajos supondrían la existencia de orificios o de anomalías en el funcionamiento celular, con lo que los pocillos no serían válidos para la realización de los experimentos. Se llevó a cabo utilizando un micropolímero (Millicell-ERS, Millipore), realizando tres medidas por pocillo. Los valores fueron determinados mediante el siguiente cálculo:

$$TEER = (\Omega_{\text{muestra}} - \Omega_{\text{blanco}}) \times 4,7$$

Ω_{muestra} : Resistencia de la monocapa celular. Ω_{blanco} : Resistencia de un pocillo sin células. 4,7: superficie del pocillo (cm^2). Las células utilizadas en el presente ensayo alcanzaron valores estables de la TEER entre 600-630 Ωcm^2 .

✓ El **transporte de rojo fenol** a través de una monocapa celular íntegra no debe ser superior al 5% por hora. Para la determinación de dicho transporte se aspiró el medio de las placas bicamerales lavando ambas cámaras con una solución tamponada (130 mM NaCl, 5 mM Glucosa, 50 mM HEPES, pH 7), libre de rojo fenol. Una vez eliminado cualquier posible resto de colorante, se añadieron 2,5 ml de dicha solución en la cámara basolateral y 1,5 ml de medio de cultivo, que contiene rojo fenol, en la apical, manteniendo las células en el incubador a 37°C durante 1 hora. Transcurrido dicho tiempo, se recogió el contenido de la cámara basolateral, se ajustó el pH a 10 (donde sólo existe la forma básica del rojo fenol) con NaOH 5 N y se midió su absorbancia a 558 nm, calculándose el porcentaje de difusión del colorante. Las medidas de las monocapas con porcentajes de transporte superiores al 5% fueron rechazadas para la realización de los ensayos. Los valores medios alcanzados se aproximaron al 2% de transporte.

El aumento de la TEER y el descenso del transporte del Rojo Fenol a lo largo de los 21 días de cultivo desde la siembra de las células, se representan en las Figuras 7 y 8, respectivamente.

Figura 7.- Aumento de la TEER

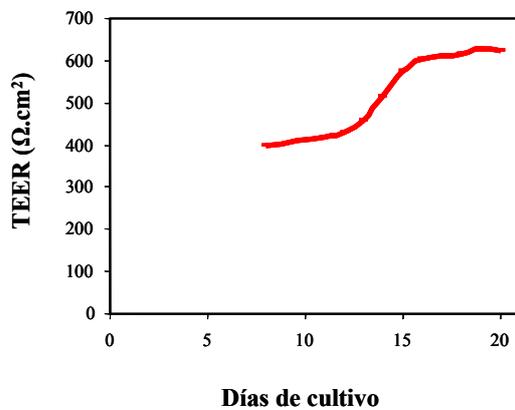


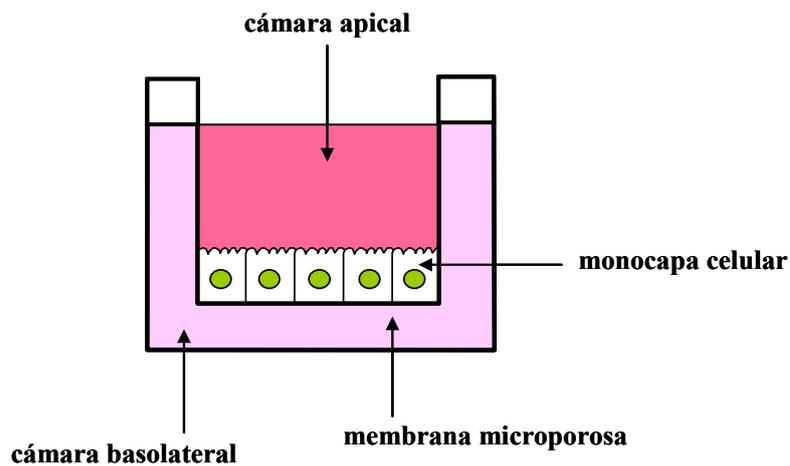
Figura 8.- Transporte del Rojo Fenol



Desarrollo del ensayo de transporte de hierro y calcio

La Figura 9 representa esquemáticamente el modelo de transporte utilizado para las células Caco-2.

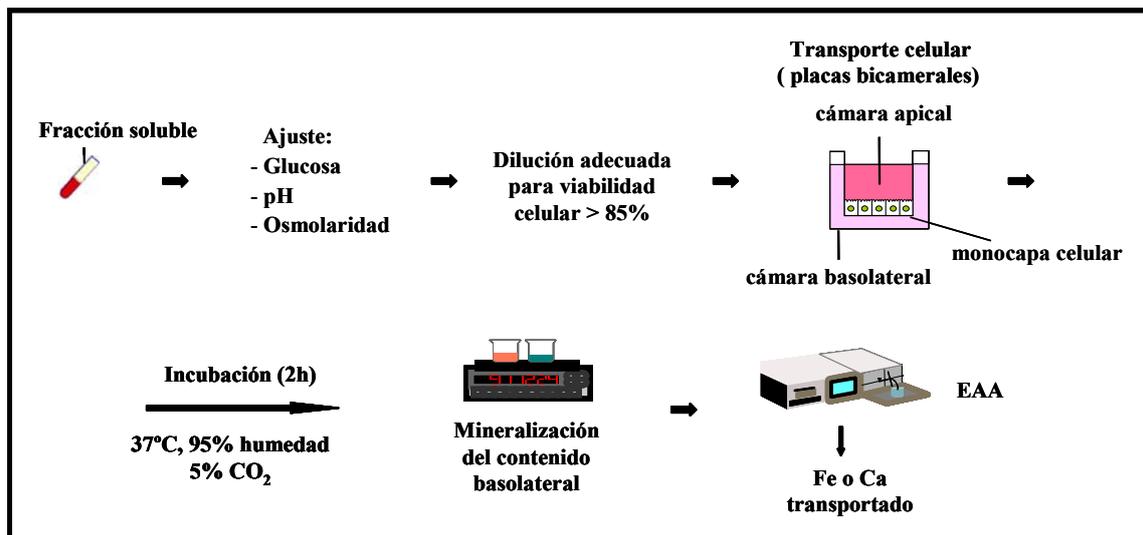
Figura 9.- Esquema de una placa bicameral (sistema de transporte)



Antes de comenzar el ensayo, todas las soluciones se atemperaron a 37°C. Se retiró el medio gastado tanto de la cámara apical como de la basolateral, lavándose la monocapa de células dos veces consecutivas con HBSS. En todas

las cámaras basolaterales se adicionaron 2,5 ml de solución de transporte (130 mM NaCl, 5 mM Glucosa, 50 mM HEPES, pH 7), mientras que en las cámaras apicales se adicionaron 1,5 ml de los sobrenadantes ajustados, incubándose durante 2 horas a 37°C. Tras este período, se recogió el contenido de la cámara basolateral y los pocillos se lavaron dos veces con agua Milli-Q. Con esto podrá calcularse el transporte de hierro y calcio a través de la monocapa celular. Por diferencia entre las cantidades iniciales adicionadas en cada cámara apical y lo detectado en las basolaterales, se calcularon las cantidades de hierro y calcio transportados a través de la monocapa y la eficacia del transporte: porcentaje del mineral transportado respecto a la cantidad añadida.

Figura 11.- Esquema de los ensayos de transporte de hierro y calcio



3. DETERMINACIONES ANALÍTICAS

3.1. Técnicas analíticas

Las determinaciones llevadas a cabo en las distintas muestras están representadas en la siguiente Figura.

Figura 12.- Determinaciones analíticas llevadas a cabo en las distintas muestras

Análisis	Comidas 	Agua de Bebida 	Orina 	Heces 	Sangre 	Suero 	Sobrenadantes y precipitados 	CB
Humedad	•							
Proteína	•							
Grasa	•							
Energía	•							
MRM	•							
Minerales	•	Ca	Fe, Ca	Fe, Ca		Fe, Ca	Fe, Ca	Fe, Ca
DPD			•					
Creatinina			•					
Hemograma					•			
Ferritina						•		
PTH						•		
PA						•		

MRM: Marcadores de la reacción de Maillard. DPD: Desoxipiridinolina. PTH: Hormona paratiroidea. PA: Fosfatasa alcalina. CB: Contenido de la cámara basolateral.

Para las determinaciones, se emplearon las siguientes técnicas analíticas:

- 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 el analizador Büchi Distillation Unit B-324 (Suiza) y conversión a proteína multiplicando por el factor 6,25 (A.O.A.C., 1980).
- Grasa, mediante extracción con éter de petróleo en un equipo Soxhlet.
- Energía (calorímetro PARR 1356, Biometa).

- Marcadores de la reacción de Maillard: furosina, carboximetilisina, hidroximetilfurfural y fluorescencia, calculados según las técnicas descritas por Delgado-Andrade y col. (2007).
- DPD, utilizando un kit inmunoensayo, Metra DPD EIA (Quidel Corporation, San Diego, CA).
- Creatinina, mediante un analizador químico (Beckman Systems, Synchron LX, Fullerton, CA).
- PTH, utilizando la técnica de radioinmunoensayo (Incstar PTH-MN, Stilwater, Minnesota).
- Fosfatasa alcalina sérica, medida enzimáticamente por técnicas estándares, utilizando paranitrofenol como sustrato.
- Los parámetros relacionados con el estatus férrico fueron determinados en las muestras de sangre y suero mediante un autoanalizador Hitachi 917 (Hitachi, Boehringer Mannheim, Mannheim, Alemania). La ferritina sérica fue medida utilizando el método MicroELISA, mientras que el hierro sérico se determinó por espectrofotometría de absorción atómica (EAA).
- Minerales, por EAA utilizando un espectrofotómetro Perkin Elmer, Analyst 700 (Norwalk, Conn., U.S.A.), salvo en el caso del fósforo, que se cuantificó por fotolorimetría (A.O.A.C., 1980). Previamente se realizó una mineralización de las muestras por vía húmeda, disponiéndolas en frascos adecuados resistentes al calor, que se situaron en un baño de arena (J.R. Selecta, S.A., COMBIPLAC, núm. Serie 0373930) a alta temperatura (210-220°C). Se las sometió a un tratamiento ácido, inicialmente con HNO₃ durante aproximadamente 1 hora y posteriormente con mezcla HNO₃:HClO₄ (1:4) hasta conseguir la total eliminación de la materia orgánica, es decir, hasta la total transparencia de la solución. Seguidamente se diluyeron con agua milli-Q para su medida en EAA. La determinación de minerales en las muestras de agua se realizó de forma directa.

Se prepararon soluciones estándar de todos los minerales de concentración 1 g/l utilizando ampollas Tritisol (Merck, Darmstadt, Alemania), a partir de las cuales se obtuvieron las correspondientes curvas patrón. Para las determinaciones

de calcio y magnesio se adicionó lantano al 0,3% (LaCl₃, Merck) en las muestras y los estándares, con objeto de evitar las posibles interferencias.

Las determinaciones analíticas se realizaron por triplicado en las comidas y duplicado en las muestras biológicas, en función de la cantidad de muestra disponible.

Para evitar la presencia de minerales, todo el material utilizado en el laboratorio fue lavado con ácido nítrico 0,1 M y enjuagado con agua milli-Q.

3.2. Precisión y exactitud de los análisis

La exactitud en las determinaciones de los minerales se cuantificó utilizando los siguientes patrones externos: *riñón de cerdo liofilizado* (Community Bureau of Reference B.C.R., Reference Material número 186), para Fe; *hígado liofilizado* (Community Bureau of Reference B.C.R., Reference Material número 185R), para Zn y *polvo de leche* (Community Bureau of Reference B.C.R. Reference Material número 63), para Ca, Mg y P. Los valores certificados y determinados en dichos patrones se recogen en la Tabla 7.

Tabla 7.- Valores certificados y determinados para los patrones externos (B.C.R.)

Mineral	Patrón	Valor certificado	Valor determinado
Ca (mg/g)		13,49 ± 0,10	13,47 ± 0,04
Mg (mg/g)	polvo de leche	1,26 ± 0,02	1,28 ± 0,01
P (mg/g)		11,10 ± 0,13	11,04 ± 0,03
Fe (µg/g)	riñón liofilizado	299 ± 10,00	311 ± 5,00
Zn (µg/g)	hígado liofilizado	138,6 ± 2,00	139,3 ± 1,50

Valores medios ± desviación estándar de 4 determinaciones

La precisión de los análisis de hierro y calcio (minerales de interés en este trabajo), se controló mediante el cálculo del Coeficiente de Variación interensayo (%) siendo de 7,44%, 4,8% y 2,51% para los análisis de hierro y 5,02%, 3,24% y 4,09% para el calcio en las comidas, heces y orina respectivamente.

4. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO

Los resultados obtenidos de los ensayos in vivo fueron analizados empleando un análisis de varianza de medidas repetidas (ANOVA) para observar la influencia del tratamiento dietético y ver si el orden de presentación de las dietas tuvo algún efecto. Para ello se utilizó el programa informático SPSS para WINDOWS (versión 13.0; SPSS Inc, Chicago, IL). Para comparar el efecto de las tres dietas (habitual, blanca y marrón) se utilizó un tratamiento de tipo longitudinal, mientras que para estudiar las diferencias entre las dos dietas experimentales (blanca y marrón) el tratamiento fue de tipo longitudinal cruzado, definiendo el factor inter-sujeto como el grupo al que pertenecía cada individuo. El intervalo de confianza se estableció según el test de Bonferroni.

En los resultados obtenidos de los ensayos in vitro se realizó un ANOVA de una vía para comparar las distintas dietas, empleando el test de Duncan para determinar las diferencias significativas. Dichas diferencias se establecieron para un valor de $p < 0,05$.

Resultados

Resultados

I. ENSAYOS IN VIVO

1. SUJETOS

1.1. Antropometría

Tabla 8.- **Características antropométricas de los adolescentes antes (T₀) y después (T₂) del período experimental**

Parámetros	T₀	T₂
Peso (kg)	56,7 ± 2,5	58,2 ± 2,2
Talla (cm)	160,4 ± 2,2	162,1 ± 2,2
Pliegues cutáneos (mm)		
Bicipital	8,7 ± 0,8	8,6 ± 0,9
Tricipital	11,9 ± 1,2	11,5 ± 1,2
Subescapular	10,9 ± 1,2	10,3 ± 1,2
Suprailíaco	10,5 ± 1,3	10,3 ± 1,4
Perímetro braquial (cm)	26,2 ± 0,6	26,7 ± 0,6
Talla sentado (cm)	81,9 ± 1,6	84,9 ± 1,5
Peso/talla (kg/m)	35,2 ± 1,3	35,8 ± 1,2
IMC (kg/m ²)	22,0 ± 0,8	22,1 ± 0,8
Superficie corporal (m ²)	1,66 ± 0,04	1,68 ± 0,04
Densidad corporal (kg/m ³)	1,06 ± 0,01	1,05 ± 0,00
Grasa corporal (kg)	12,47 ± 1,21	15,25 ± 2,74
Grasa corporal (%)	21,18 ± 1,54	20,43 ± 1,49

IMC: Índice de masa corporal. Valores medios ± error estándar (n = 20).

Durante el período experimental los chicos crecieron tanto en peso como en altura, observándose un incremento medio de 1,5 kg y de 1,7 cm respecto a los valores iniciales de los sujetos (Tabla 8). Como consecuencia de este crecimiento igualmente se produjo un aumento en la talla sentado, la relación peso/talla y la superficie corporal. Así mismo aumentó el perímetro braquial.

Por el contrario, los valores de los pliegues cutáneos no aumentaron tras el consumo de las dietas blanca y marrón.

La densidad corporal y el índice de masa corporal permanecieron prácticamente inalterados. De 20 adolescentes, 13 tenían un IMC en torno a los percentiles 25-85 (normopeso), 7 presentaron un IMC mayor del percentil 85 (sobrepeso) y ninguno de ellos tenía un IMC menor del percentil 15 (subnutrición).

La grasa total corporal (kg) experimentó un aumento tras el ensayo, aunque al expresarla como porcentaje corporal, disminuyó respecto de los datos iniciales de los chicos.

1.2. Hábitos de vida de los adolescentes

En la Tabla 9 se exponen los resultados más relevantes obtenidos en la encuesta de hábitos de vida realizada a los sujetos. Se incluyen aquéllos relacionados con los hábitos alimentarios de los adolescentes, preferencias y rechazos de alimentos, consumo de los mismos en distintas horas del día, etc.

Así mismo se incluyen los resultados referentes a la actividad física o sedentarismo, que condicionan el gasto energético diario de los sujetos.

Tabla 9.- Resultados de la encuesta de hábitos de vida expresados como porcentaje del total de sujetos

Almuerzan en el colegio*		Comen algo en el recreo	
Sí	19	Sí	76,2
No	81	No	19,1
Horas de deporte a la semana		A veces	
< 5	47,62		4,8
5-10	33,33	Alimento consumido en el recreo	
> 10	19,05	Bocadillo	73,7
Horas de televisión al día		Bollería	15,8
< 1	23,8	Batido	5,3
1-2	71,4	Zumo	5,3
2-3	4,8	Comidas que hacen al día	
> 3	0	Tres	14,3
Tiempo que dedican a jugar a videojuegos o consolas al día		Cuatro	52,4
< 1 hora	23,8	Cinco	33,3
1-2 horas	61,9	Alimentos que más les gustan	
2-3 horas	14,3	Pizza	61,9
>3 horas	0	Espaguetis	47,6
Comen algo mientras ven la tele o juegan con videojuegos o consolas		Carne	47,6
Sí	38,1	Patatas fritas	42,9
No	61,9	Hamburguesa	19,1
Toman chucherías/refrescos mientras ven la tele o juegan con videojuegos		Alimentos que menos les gustan	
Sí	23,8	Hígado	66,7
No	76,2	Riñones	76,2
Desayunan antes de ir a clase		Pescado	28,6
No	0	Garbanzos	14,3
Leche sola	4,8	Suelen merendar	
Leche con cacao	33,3	Sí	76,2
Leche con cereales	28,6	No	19,1
Leche con tostadas	19,05	A veces	4,8
Leche con bollos, galletas, magdalenas	19,05	Les gustan los cereales de desayuno	
Fruta	4,8	Sí	85,7
		No	14,3
		Hacen dieta	
		No	100
		Toman fármacos o vitaminas	
		Sí	14,3
		No	85,7

* Los sujetos que comían en el colegio dejaron de hacerlo durante el período experimental, con el fin de conseguir una mejor adhesión a la dieta

2. DIETAS, ALIMENTOS E INGESTA DE NUTRIENTES

2.1. Medida del grado de desarrollo de la reacción de Maillard en las dietas experimentales

Tabla 10.- Marcadores de la reacción de Maillard

	DB	DM
Furosina (mg/100 g*)	6,99	6,37
CML (mg/100 g*)	1,41	2,38
HMF (µg/100 g*)	94	387
Fluorescencia (%)	7,31	21,04

CML: Carboximetilisina. HMF: Hidroximetilfurfural.

DB: Dieta Blanca. DM: Dieta Marrón.

* Referido a 100 g de dieta como materia seca.

Calculado a partir de Delgado-Andrade y col. (2007)

Los marcadores analizados para observar el grado de desarrollo de la reacción de Maillard, mostraron un claro aumento de la presencia de HMF, CML y fluorescencia, marcadores avanzados de la reacción, en la dieta rica en productos pardos (Tabla 10). Por su parte, la furosina, marcador temprano, presente en ambas dietas, prácticamente permaneció inalterada o incluso puede considerarse ligeramente superior en la dieta blanca.

2.2. Composición de energía y nutrientes de los distintos platos

La realización de esta Tesis Doctoral forma parte de un proyecto más amplio en el que se ha determinado la composición de energía y nutrientes de los distintos platos y alimentos que componen las dietas diseñadas consumidas por los adolescentes objeto de estudio (Tabla 11). Los resultados obtenidos en la composición de hierro y calcio se emplearon en el presente trabajo para calcular la ingesta global de los adolescentes en cada una de las dietas. A continuación se ofrecen los datos correspondientes a energía, proteínas, grasa, Ca, P, Mg, Fe y Zn de cada uno de los platos y alimentos analizados, referidos a 100 g de materia fresca.

Tabla 11.- Composición de energía y nutrientes de los distintos platos y alimentos por 100 g de materia fresca

11.1.- Composición de energía y nutrientes de las comidas por 100 g de materia fresca

Platos	Energía (kcal)	Proteínas (g)	Grasa (g)	Calcio (mg)	Fósforo (mg)	Magnesio (mg)	Hierro (mg)	Zinc (mg)
Ensalada mixta	99 ± 0	3,6 ± 0,0	6,8 ± 0,1	49,0 ± 0,9	70,1 ± 2,1	14,1 ± 0,2	0,73 ± 0,06	0,53 ± 0,03
Cocido	100 ± 0	5,0 ± 0,1	2,5 ± 0,0	6,2 ± 0,9	37,3 ± 0,3	24,4 ± 0,5	1,06 ± 0,03	0,81 ± 0,03
Ensalada pasta	139 ± 1	3,6 ± 0,0	7,1 ± 0,0	9,9 ± 0,0	44,2 ± 1,6	12,9 ± 0,2	1,06 ± 0,14	0,52 ± 0,01
Pollo DB ¹	71 ± 1	7,2 ± 0,1	2,3 ± 0,0	7,8 ± 0,6	61,0 ± 1,3	14,6 ± 0,0	0,81 ± 0,05	0,74 ± 0,04
Lentejas	91 ± 0	4,2 ± 0,0	2,3 ± 0,0	9,4 ± 0,4	65,0 ± 1,0	21,7 ± 0,0	1,56 ± 0,03	0,63 ± 0,03
Huevos rellenos	220 ± 0	9,1 ± 0,0	17,8 ± 0,1	6,6 ± 0,0	122,8 ± 7,7	10,7 ± 0,3	1,72 ± 0,01	0,83 ± 0,06
Menestra	33 ± 1	1,2 ± 0,0	1,2 ± 0,0	24,6 ± 0,3	265 ± 1,5	14,8 ± 0,4	0,46 ± 0,01	0,23 ± 0,01
Lomo DB ²	133 ± 0	13,3 ± 0,0	4,4 ± 0,1	3,9 ± 0,1	157,7 ± 1,2	18,3 ± 0,5	0,84 ± 0,01	0,84 ± 0,02
Ensaladilla	108 ± 7	2,5 ± 0,0	21,9 ± 0,2	5,9 ± 0,1	37,0 ± 0,4	8,2 ± 0,2	0,75 ± 0,10	0,24 ± 0,01
Emped. alubias ³	91 ± 1	4,9 ± 0,0	3,0 ± 0,0	68,0 ± 1,0	23,7 ± 0,8	29,3 ± 0,2	3,05 ± 0,32	1,48 ± 0,20
Revuelto DB ⁴	105 ± 0	6,7 ± 0,0	4,2 ± 0,1	10,1 ± 0,3	130,7 ± 1,0	17,0 ± 0,7	1,25 ± 0,02	1,03 ± 0,01
Ragout ternera	119 ± 1	13,0 ± 0,2	2,5 ± 0,1	10,0 ± 0,1	97,4 ± 2,7	18,9 ± 0,4	1,25 ± 0,04	2,43 ± 0,02
Cazuela arroz	92 ± 1	3,7 ± 0,0	1,7 ± 0,0	7,2 ± 0,2	69,8 ± 2,1	14,3 ± 0,3	0,57 ± 0,02	0,45 ± 0,02
Pollo DM ⁵	344 ± 0	18,3 ± 0,3	20,7 ± 0,4	6,6 ± 0,3	188,3 ± 1,8	32,0 ± 0,5	0,98 ± 0,08	0,89 ± 0,02
Tortilla patatas	99 ± 2	3,8 ± 0,0	5,3 ± 0,1	22,1 ± 0,6	62,3 ± 0,5	21,7 ± 0,2	0,98 ± 0,02	0,04 ± 0,02
Panaché verduras	29 ± 1	1,3 ± 0,0	0,8 ± 0,0	32,3 ± 0,7	29,1 ± 2,4	14,7 ± 0,2	0,93 ± 0,18	0,28 ± 0,03
Lomo DM ⁶	243 ± 0	15,2 ± 0,0	14,1 ± 0,1	4,6 ± 0,0	206,5 ± 3,1	26,1 ± 0,5	1,96 ± 0,08	1,55 ± 0,03
Empanadillas	211 ± 2	3,9 ± 0,0	14,2 ± 0,1	10,0 ± 0,3	24,5 ± 5,7	14,7 ± 0,0	0,85 ± 0,03	0,53 ± 0,07
Tortilla granadina	190 ± 0	8,2 ± 0,0	11,6 ± 0,1	21,6 ± 0,7	131,6 ± 2,0	15,8 ± 0,6	1,73 ± 0,02	0,98 ± 0,04
Albóndigas	183 ± 1	7,9 ± 0,0	10,8 ± 0,0	20,0 ± 0,1	99,8 ± 2,4	24,1 ± 0,6	1,92 ± 0,06	1,37 ± 0,01
Paella	212 ± 1	7,1 ± 0,1	7,7 ± 0,1	6,5 ± 0,7	86,7 ± 2,5	19,8 ± 0,9	4,65 ± 0,25	0,66 ± 0,03

DB: Dieta Blanca. DM: Dieta Marrón. Valores medios ± error estándar (n = 3).

¹ Pollo DB: Pollo guisado con patatas hervidas. ² Lomo DB: Lomo de cerdo a la sal con patatas hervidas.

³ Emped. alubias: Empedraíllo de alubias con arroz. ⁴ Revuelto DB: Revuelto de patatas, tomate y jamón.

⁵ Pollo DM: Pollo frito con patatas fritas. ⁶ Lomo DM: Lomo de cerdo a la plancha con patatas fritas.

Los nombres completos de los distintos platos, así como los ingredientes de los mismos pueden visualizarse en las Tablas 3 y 4 respectivamente.

11.2.- Composición de energía y nutrientes de las cenas por 100 g de materia fresca

Platos	Energía (kcal)	Proteínas (g)	Grasa (g)	Calcio (mg)	Fósforo (mg)	Magnesio (mg)	Hierro (mg)	Zinc (mg)
Sopa de picadillo	43±0	3,7±0,0	0,9±0,0	5,3±0,1	18,3±1,0	8,1±0,2	0,50±0,06	0,28±0,01
Salchichas	173±1	8,7±0,0	11,6±0,4	44,0±2,0	97,6±3,8	12,3±0,3	1,29±0,07	0,73±0,03
Crema gambas	52±0	4,0±0,0	0,9±0,0	5,5±0,1	48,8±0,6	13,7±0,2	0,57±0,12	0,36±0,07
Mero al horno	87±0	14,1±0,1	1,5±0,0	6,0±0,2	157,0±4,5	28,1±0,3	0,66±0,03	0,44±0,01
Ensalada tropical	47±0	1,3±0,0	3,2±0,0	10,1±0,1	24,9±0,4	12,3±0,0	0,86±0,10	0,33±0,01
Emperador DB ¹	188±4	11,8±0,1	12,2±0,0	7,2±2,1	125,2±2,8	18,7±0,2	0,64±0,06	0,73±0,02
Espaguetis	134±0	4,2±0,0	3,3±0,1	29,6±0,6	62,3±2,7	17,9±0,5	0,67±0,05	0,49±0,01
Consomé	25±0	1,1±0,0	0,2±0,0	4,9±0,1	6,1±0,0	5,1±0,0	0,37±0,02	0,19±0,03
Merluza DB ²	86±1	10,5±0,1	1,4±0,0	7,1±0,4	100,5±1,7	20,0±0,2	0,58±0,02	0,37±0,02
Sopa juliana	24±0	0,8±0,0	1,4±0,0	7,1±0,2	17,0±0,8	9,4±0,3	0,56±0,15	0,32±0,07
Pasta-tomate-queso	99±9	2,8±0,0	1,3±0,0	9,3±1,2	35,8±2,5	14,1±0,3	0,64±0,07	0,40±0,03
Crema verdura DB ³	29±0	0,9±0,0	1,0±0,0	25,7±1,1	19,6±0,6	12,2±0,5	0,98±0,07	0,32±0,01
Pudding-pescado	130±0	11,1±0,1	5,4±0,1	68,1±1,5	152,1±6,8	20,3±1,1	1,18±0,02	0,83±0,03
Hamburguesa	227±0	13,0±0,2	10,7±0,1	5,8±0,2	150,4±1,4	29,0±0,2	1,25±0,03	2,05±0,07
Croquetas	213±1	4,0±0,0	12,5±0,1	27,8±0,2	70,0±1,0	23,3±0,3	1,14±0,03	0,40±0,01
Emperador DM ⁴	237±1	12,3±0,0	10,8±0,1	7,1±0,2	167,8±3,3	26,8±0,8	0,96±0,05	0,72±0,03
Macarrones	142±0	7,3±0,0	4,4±0,1	109,3±6,6	58,9±11,2	18,9±0,3	0,96±0,05	0,91±0,01
Merluza DM ⁵	253±0	11,9±0,1	12,4±0,1	50,4±4,6	173,8±7,0	28,6±0,3	0,98±0,05	0,52±0,03
Pizza	336±2	11,4±0,1	9,8±0,0	67,3±12,7	179,3±0,8	28,7±0,6	1,63±0,10	1,56±0,10
Crema verdura DM ⁶	39±1	0,9±0,0	1,6±0,0	10,5±0,1	19,2±1,0	11,3±0,3	0,58±0,06	0,21±0,02
Palitos merluza	289±1	9,9±0,0	14,4±0,3	21,0±2,0	4,0±0,0	21,3±0,1	0,98±0,16	0,50±0,07

DB: Dieta Blanca. DM: Dieta Marrón. Valores medios ± error estándar (n = 3).

¹ Emperador DB: Emperador a la crema con arroz. ² Merluza DB: Merluza al horno con patatas cocidas.

³ Crema verdura DB: Crema de verduras sin picatostes. ⁴ Emperador DM: Emperador empanado con

arroz. ⁵ Merluza DM: Merluza empanada. ⁶ Crema verdura DM: Crema de verduras con picatostes.

11.3.- Composición de energía y nutrientes de los postres por 100 g de materia fresca

Platos	Energía (kcal)	Proteínas (g)	Grasa (g)	Calcio (mg)	Fósforo (mg)	Magnesio (mg)	Hierro (mg)	Zinc (mg)
Yogur de fresa	100±1	3,6±0,0	2,9±0,0	168,5±1,2	115,5±5,1	11,0±0,3	0,31±0,14	0,55±0,02
Plátano	109±1	1,2±0,0	2,3±0,0	3,1±0,2	25,1±0,0	27,3±0,5	0,70±0,19	0,33±0,05
Pera	54±0	0,5±0,0	0,1±0,0	5,5±0,2	14,9±0,5	9,6±0,1	0,49±0,07	0,21±0,02
Natillas vainilla	130±1	3,5±0,0	4,9±0,1	75,6±0,5	85,2±0,1	10,7±0,6	0,67±0,19	0,63±0,03
Arroz-leche DB ¹	133±1	2,4±0,0	2,4±0,0	31,5±0,8	56,0±2,3	10,3±0,6	0,31±0,05	0,37±0,02
Mandarina	43±0	0,7±0,0	2,5±0,1	10,1±0,5	14,0±1,0	7,9±0,2	0,74±0,05	0,25±0,04
Melocotón	60±0	0,5±0,0	1,9±0,1	5,8±0,2	13,4±0,8	5,2±0,2	0,43±0,03	0,14±0,02
Manzana	48±0	0,4±0,0	3,7±0,1	2,4±0,1	9,1±0,1	3,9±0,1	0,54±0,04	0,18±0,01
Yogur chocolate	128±0	3,7±0,0	3,0±0,0	105,5±2,7	60,3±2,0	22,9±1,2	1,41±0,10	0,59±0,01
Flan con caramelo	155±1	2,2±0,0	7,4±0,3	7,6±0,2	25,3±0,1	7,2±0,1	0,53±0,02	0,55±0,02
Arroz-leche DM ²	145±1	2,8±0,0	2,2±0,1	43,4±1,5	72,5±1,6	11,2±0,3	0,40±0,02	0,43±0,01
Torrija	272±3	6,5±0,0	12,0±0,2	64,2±4,8	155,0±3,0	14,6±0,1	1,14±0,13	0,81±0,01
Natillas chocolate	147±0	3,2±0,0	4,0±0,1	80,4±3,3	85,2±0,8	18,9±0,2	1,44±0,23	0,55±0,33

DB: Dieta Blanca. DM: Dieta Marrón. Valores medios ± error estándar (n = 3).

¹ Arroz-leche DB: Arroz con leche sin canela. ² Arroz-leche DM: Arroz con leche con canela

El orden de aparición de los distintos platos en las Tablas sigue la distribución de los mismos en el menú. Las Tablas 11.1 y 11.2 comienzan, respectivamente, por las comidas y cenas de la dieta blanca, seguidas de las de la marrón. De la misma manera se presentan los postres en la Tabla 11.3.

Los valores de energía son los determinados por la bomba calorimétrica, correspondiendo, por tanto, a cifras de energía bruta y no de energía metabolizable, como aparece normalmente en las tablas de composición de alimentos.

11.4.- Composición de energía y nutrientes de los desayunos y meriendas por 100 g de materia fresca

Platos	Energía (kcal)	Proteínas (g)	Grasa (g)	Calcio (mg)	Fósforo (mg)	Magnesio (mg)	Hierro (mg)	Zinc (mg)
Batido chocolate	-	2,9±0,0	2,2±0,0	107,7±0,8	92,1±0,5	14,4±0,3	0,34±0,01	0,45±0,02
Batido vainilla	-	2,7±0,0	1,1±0,0	108,4±0,4	91,0±0,4	9,8±0,1	0,05±0,01	0,37±0,03
Cereales desayuno	350±2	8,0±0,5	0,8±0,0	8,8±0,3	46,1±1,7	12,5±0,4	8,53±0,02	0,28±0,01
Cacao en polvo	409±0	6,9±0,1	4,2±0,1	270,6±7,7	299,5±16,9	126,2±0,8	9,38±0,01	2,43±0,18
Donut chocolate	501±2	6,6±0,1	33±0,1	103,0±3,2	63,1±1,2	36,3±1,5	2,82±0,28	0,96±0,13
Galletas	507±1	7,0±0,1	20,2±0,3	23,6±1,1	70,1±6,0	17,2±0,0	1,33±0,02	0,84±0,16
Leche entera	68±0	6,2±0,0	3,8±0,0	106,4±2,0	96,6±1,4	9,7±0,1	0,10±0,03	0,54±0,04
Magdalenas	497±2	6,0±0,1	27,3±0,1	18,3±0,6	135,1±8,9	8,3±0,3	1,17±0,08	1,29±0,67
Margarina	607±14	4,0±0,0	67,5±0,6	132,0±8,3	86,8±3,2	2,6±0,1	0,71±0,03	0,35±0,09
Mortadela	271±1	11,7±0,1	21,4±0,1	12,7±1,2	183,5±8,2	10,3±0,6	1,56±0,10	1,29±0,10
Pan de molde DB ¹	273±0	9,1±0,0	2,4±0,1	101,6±3,0	78,8±1,1	20,4±0,4	1,69±0,19	0,95±0,05
Pan de molde	276±2	9,2±0,0	1,9±0,0	138,4±6,7	120,4±12,6	21,7±0,2	1,75±0,28	1,11±0,09
Pan normal	309±2	3,7±0,0	0,9±0,1	88,7±4,8	90,1±2,1	19,4±0,1	1,44±0,13	1,04±0,07
Paté	383±1	14,1±0,1	33,8±0,1	4,5±0,9	191,1±6,1	8,1±0,2	4,78±0,10	2,88±0,05
Queso para untar	275±2	5,6±0,1	25,8±0,1	97,6±1,6	107,9±1,2	18,8±0,3	0,65±0,08	0,77±0,01

DB: Dieta Blanca. ¹ Pande molde DB: Pan de molde sin corteza. Valores medios ± error estándar (n = 3).

Los alimentos integrantes de desayunos y meriendas se exponen en la Tabla 11.4 ordenados alfabéticamente independientemente de si corresponden a la dieta blanca o a la marrón, ya que algunos de ellos se consumen indistintamente en las dos dietas experimentales.

2.3. Frecuencia de consumo de alimentos

Como resultado del consumo de las dietas según el aporte de cada una de ellas y las preferencias de los adolescentes para la elección de los alimentos, se calculó la frecuencia de consumo en cada una de las dietas (Tabla 12).

Tabla 12.- Frecuencia de consumo de alimentos (raciones/día) durante la ingesta de las distintas dietas

	DH	DB	DM
Pollo	0,24 ± 0,76	0,11 ± 0,01a	0,14 ± 0,01b
Carnes rojas	0,56 ± 0,06	0,28 ± 0,01a*	0,43 ± 0,01b
Embutido	1,01 ± 0,13	1,06 ± 0,13a	0,51 ± 0,06b*
Total de carnes	1,81 ± 0,19	1,45 ± 0,13a	1,08 ± 0,06b*
Pescado	0,19 ± 0,06	0,41 ± 0,04*	0,38 ± 0,02*
Huevos	0,28 ± 0,04	0,10 ± 0,01a*	0,29 ± 0,02b
Leche	1,24 ± 0,11	1,21 ± 0,11	1,32 ± 0,09
Yogur	0,37 ± 0,11	0,46 ± 0,11	0,27 ± 0,02
Queso	0,29 ± 0,06	0,32 ± 0,07	0,20 ± 0,02
Otros lácteos	0,57 ± 0,13	0,87 ± 0,08	0,85 ± 0,08
Total de lácteos	2,48 ± 0,20	2,85 ± 0,18	2,64 ± 0,10
Pan	1,63 ± 0,18	3,48 ± 0,13a*	2,30 ± 0,12b*
Cereales de desayuno	0,17 ± 0,06	0,01 ± 0,01a*	0,74 ± 0,07b*
Arroz	0,14 ± 0,04	0,38 ± 0,02*	0,38 ± 0,02*
Pasta	0,38 ± 0,09	0,67 ± 0,02a*	0,53 ± 0,02b
Pizza	0,26 ± 0,05	0,00 ± 0,00a*	0,15 ± 0,01b
Bollería/Galletas	0,73 ± 0,13	0,01 ± 0,01a*	0,53 ± 0,09b
Total de cereales	3,32 ± 0,21	4,54 ± 0,13*	4,64 ± 0,16*
Legumbres	0,10 ± 0,04	0,39 ± 0,02*	0,36 ± 0,02*
Patatas	0,58 ± 0,11	0,83 ± 0,04	0,83 ± 0,01
Dulces/Golosinas	0,98 ± 0,21	0,17 ± 0,06a*	1,23 ± 0,10b
Ensalada y Verduras	0,58 ± 0,12	0,79 ± 0,06a	0,68 ± 0,05b
Frutas y Zumos	0,94 ± 0,16	1,73 ± 0,12a*	1,37 ± 0,11b*

DH: Dieta Habitual. DB: Dieta Blanca. DM: Dieta Marrón

Valores medios ± error estándar (n = 20). Análisis de varianza de medidas repetidas:

□ Longitudinal entre DH, DB y DM. * indica diferencias significativas respecto a la DH.

□ Longitudinal cruzado entre DB y DM. Distintas letras indican diferencias significativas.

En las dietas experimentales aumentó significativamente el consumo de pescado, cereales, legumbres y frutas, comparado con la dieta habitual. En las raciones de verduras se observó igualmente un incremento, aunque no de forma significativa. Entre las dietas blanca y marrón aparecieron diferencias en la ingesta de frutas, ensaladas y verduras, en las que la dieta blanca supuso un mayor consumo respecto de la marrón.

El aumento observado en la ingesta de cereales durante el período experimental se debió a un consumo superior de pan, arroz y pasta. Por su parte, los cereales de desayuno incrementaron significativamente en la dieta marrón con respecto de la habitual, mientras que en la blanca la significación estuvo asociada a un descenso debido a la ausencia casi total de estos alimentos en esta dieta, así como de pizza y bollería/galletas, ricos en productos de la reacción de Maillard.

La ingesta total de raciones de carne, por el contrario, se redujo durante las dietas blanca y marrón, significativamente sólo en la dieta rica en productos pardos. Dicha reducción se debió fundamentalmente al descenso en el consumo de embutidos, ya que mientras que en la dieta blanca las meriendas consistían frecuentemente en bocadillos con embutidos, en la dieta marrón se permitía, e incluso se aconsejaba en cierta medida, el consumo de bollería.

Los huevos aumentaron en la dieta marrón, mientras que disminuyeron significativamente en la blanca, debido, fundamentalmente, a la ausencia de alimentos rebozados en esta última. Igualmente ocurrió con el grupo considerado como dulces y golosinas, donde se incluyen alimentos como mermelada, frutos secos, chocolate, cacao en polvo, etc., estos últimos frecuentes en los desayunos y meriendas de la dieta marrón y ausentes en la blanca.

Los lácteos y las patatas prácticamente permanecieron inalterados.

2.4. Ingesta de energía y macronutrientes

Tabla 13.- Ingesta diaria de energía y macronutrientes durante el consumo de las distintas dietas

	DH	DB	DM
Energía (Kcal)	2017 ± 80	2176 ± 53	2271 ± 44*
Proteína (g)	80,3 ± 3,5	84,7 ± 2,4	80,0 ± 1,9
Carbohidratos (g)	249 ± 10	270 ± 7	287 ± 6*
Grasa (g)	84,3 ± 5,3	91,0 ± 2,8a	97,4 ± 2,0b
%E proteína	15,5 ± 0,5	15,1 ± 0,2a	13,6 ± 0,2b*
%E carbohidratos	48,0 ± 1,2	48,3 ± 0,5	49,0 ± 0,4
%E grasa	36,5 ± 1,2	36,6 ± 0,5a	37,4 ± 0,3b
Fibra (g)	15,5 ± 0,6	20,8 ± 0,6*	21,5 ± 0,6*
AGMI (g)	28,5 ± 1,9	36,4 ± 1,4a*	40,7 ± 1,1b*
AGPI (g)	9,6 ± 0,8	10,0 ± 0,4a	12,0 ± 0,4b*
AGS (g)	21,0 ± 1,7	17,9 ± 0,8	18,7 ± 0,6
AGI/AGS	1,88 ± 0,08	2,62 ± 0,09a*	2,84 ± 0,08b*
AGPI/AGMI	0,34 ± 0,02	0,27 ± 0,00a*	0,29 ± 0,01b
Colesterol (mg)	229 ± 20	258 ± 13a	219 ± 8b

DH: Dieta Habitual. DB: Dieta Blanca. DM: Dieta Marrón. E: Energía. AGMI: Ácidos grasos monoinsaturados. AGPI: Ácidos grasos poliinsaturados. AGS: Ácidos grasos saturados. AGI: Ácidos grasos insaturados.

Valores medios ± error estándar (n = 20). Análisis de varianza de medidas repetidas:

□ Longitudinal entre DH, DB y DM. * indica diferencias significativas respecto a la DH.

□ Longitudinal cruzado entre DB y DM. Distintas letras indican diferencias significativas.

En función de la base de datos del programa informático, el consumo de las raciones de alimentos citadas en la Tabla 12 supone una ingesta de energía y nutrientes que se representa en las Tablas 13-15.

En la Tabla 13 se ofrecen los datos de energía y macronutrientes, expresándose como cantidad ingerida y como el porcentaje de energía que representan cada uno de ellos en las dietas. También se incluyen los datos de fibra, ácidos grasos y colesterol.

Con respecto a la dieta habitual, la ingesta calórica aumentó durante el consumo de las dietas experimentales, de forma significativa sólo cuando la dieta era rica en productos pardos, en la que se produjo un incremento de la grasa ingerida respecto a las otras dos dietas y de los carbohidratos, que aumentaron significativamente respecto de la dieta habitual.

Al expresar los datos como porcentaje de energía aportada por los macronutrientes sólo disminuyó significativamente la energía de las proteínas en la etapa marrón, siendo el resto de valores muy similares respecto a la dieta habitual de los adolescentes.

El consumo de fibra incrementó de forma marcada cuando los sujetos consumieron las dos dietas experimentales.

La ingesta de ácidos grasos mono y poliinsaturados aumentó durante el período experimental, observándose un descenso, aunque no significativo, en el caso de los saturados. La relación AGI/AGS aumentó significativamente en ambas dietas, comparada con la dieta habitual, siendo superior en la dieta marrón. Por su parte, la proporción AGPI/AGMI disminuyó, aunque de forma significativa sólo en la dieta blanca. El consumo de colesterol prácticamente permaneció constante.

Las dietas blanca y marrón proporcionaron un consumo de energía y macronutrientes bastante similar, encontrándose únicamente diferencias significativas en las grasas, mayor en la dieta rica en productos pardos. La energía aportada por los macronutrientes fue igualmente muy similar en las dos dietas, si bien aparecieron ligeras diferencias que llegaron a ser significativas en la energía aportada por las proteínas, mayor en la dieta blanca, y por las grasas, mayor en la dieta marrón.

2.5. Ingesta de micronutrientes

Vitaminas

Tabla 14.- Ingesta diaria de vitaminas durante el consumo de las distintas dietas

	DH	DB	DM
Vitamina A (µg)	589 ± 71	1032 ± 53*	1045 ± 36*
Vitamina B₁ (mg)	1,45 ± 0,07	1,57 ± 0,04	1,57 ± 0,04
Vitamina B₂ (mg)	1,59 ± 0,07	1,88 ± 0,07a*	2,10 ± 0,06b*
Vitamina B₆ (mg)	1,44 ± 0,07	2,07 ± 0,08*	2,15 ± 0,06*
Vitamina B₁₂ (µg)	8,6 ± 0,9	8,2 ± 0,5a	12,4 ± 0,5b*
Vitamina C (mg)	55 ± 6	100 ± 7*	93 ± 5*
Vitamina D (µg)	2,0 ± 0,3	2,9 ± 0,2a	2,3 ± 0,1b
Vitamina E (mg)	7,1 ± 0,8	10,5 ± 0,5a*	8,8 ± 0,4b
Niacina (mg)	18,9 ± 5,1	22,2 ± 0,7	22,2 ± 0,6*
Ácido Fólico (µg)	142 ± 10	245 ± 8*	252 ± 9*

DH: Dieta Habitual. DB: Dieta Blanca. DM: Dieta Marrón.

Valores medios ± error estándar (n = 20). Análisis de varianza de medidas repetidas:

□ □ □ Longitudinal entre DH, DB y DM. * indica diferencias significativas respecto a la DH.

□ □ Longitudinal cruzado entre DB y DM. Distintas letras indican diferencias significativas.

La ingesta de vitaminas A, B₂, B₆, C y ácido fólico aumentó significativamente durante el consumo de las dietas experimentales. El incremento de B₁₂ y Niacina fue significativo sólo en la marrón y el de vitamina E sólo en la blanca.

La comparación entre ambas dietas experimentó un aumento que aunque no fue cuantitativamente importante en la mayor parte de los casos, resultó significativo en las vitaminas B₂ y B₁₂, asociado al consumo de la dieta marrón, y en las vitaminas D y E, asociado al consumo de la dieta blanca.

Minerales

Tabla 15.- Ingesta diaria de minerales durante el consumo de las distintas dietas

	DH	DB	DM
Sodio(mg)	2223 ± 110	1650 ± 51a*	2031 ± 57b
Potasio (mg)	2064 ± 111	3312 ± 72a*	2743 ± 65b*
Calcio (mg)	875 ± 44	1005 ± 38a*	909 ± 19b
Fósforo (mg)	1229 ± 54	1360 ± 34	1371 ± 27
Magnesio (mg)	262 ± 14	306 ± 9*	305 ± 9*
Hierro (mg)	13,1 ± 0,6	13,7 ± 0,4a	15,4 ± 0,4b*
Zinc (mg)	7,3 ± 0,4	8,6 ± 0,3a	7,3 ± 0,2b

DH: Dieta Habitual. DB: Dieta Blanca. DM: Dieta Marrón.

Valores medios ± error estándar (n = 20). Análisis de varianza de medidas repetidas:

□ Longitudinal entre DH, DB y DM. * indica diferencias significativas respecto a la DH.

□ Longitudinal cruzado entre DB y DM. Distintas letras indican diferencias significativas.

El consumo de minerales en aumentó durante la intervención nutricional respecto a la dieta habitual de los adolescentes de forma significativa para el potasio y magnesio en ambas etapas, para el calcio en la blanca y para el hierro en la marrón. Dicho efecto no se observó en el caso del sodio en la dieta blanca, que mostró una disminución significativa, o el zinc en la dieta marrón, que permaneció inalterado.

Entre las dietas rica y pobre en productos pardos se observaron ciertas diferencias significativas, aunque algunas de ellas no aparecen cuando los datos proceden del análisis de laboratorio, como ocurre en el caso del calcio.

Los datos correspondientes al hierro y al calcio, al igual que el resto de nutrientes, son los calculados por vía informática, por lo que se observarán diferencias respecto de los resultados que se exponen a continuación.

3. CALCIO

Los datos de calcio que se ofrecen a continuación han sido calculados tras el análisis del elemento en alimentos y dietas, cuyos resultados, como ya se ha comentado, resultaron diferentes a los derivados del programa informático (Tabla 15).

3.1. Fuentes de calcio

Aporte de calcio

El aporte diario de calcio de las distintas fuentes alimentarias y específicamente de los productos lácteos se expone en las Tablas 16 y 17.

Tabla 16.- **Aporte diario de calcio (mg/día) de las distintas fuentes alimentarias**

	DH	DB	DM
Carnes, huevos, pescados	55,1 ± 5,5	48,1 ± 3,3	53,9 ± 2,2
Lácteos	670,1 ± 50,9	706,8 ± 53,3	686,0 ± 28,0
Cereales	92,4 ± 6,4	107,8 ± 4,2*	106,3 ± 4,0
Legumbres	9,3 ± 3,9	34,3 ± 1,4*	33,3 ± 1,6*
Frutas, verduras	66,8 ± 8,3	101,2 ± 4,4a*	89,8 ± 33,6b
Agua y otras fuentes	41,3 ± 5,6	28,8 ± 4,6a*	49,7 ± 3,5b

DH: Dieta Habitual. DB: Dieta Blanca. DM: Dieta Marrón.

Valores medios ± error estándar (n = 20). Análisis de varianza de medidas repetidas:

□ □ Longitudinal entre DH, DB y DM. * indica diferencias significativas respecto a la DH.

□ □ Longitudinal cruzado entre DB y DM. Distintas letras indican diferencias significativas.

Durante el período experimental disminuyó el calcio aportado por las carnes, huevos y pescados y, de forma significativa, el aportado por “otras fuentes” en la dieta blanca. Al contrario ocurrió con el resto de las fuentes, que aportaron mayor cantidad del mineral en las dietas blanca y marrón respecto de la habitual, observándose un aumento significativo en el calcio procedente de las legumbres en ambas dietas experimentales y de los cereales y las frutas y verduras en la blanca.

Al comparar las dietas rica y pobre en productos pardos únicamente se observaron diferencias significativas en el calcio aportado por las frutas y verduras, mayor en la dieta blanca, y por el de “otras fuentes”, mayor en la dieta marrón.

En el grupo de agua y otras fuentes se incluyen el cacao en polvo y el chocolate, alimentos ricos en calcio, cuya ausencia en la dieta blanca hace que su aporte del mineral en esta dieta sea significativamente inferior al de las dietas habitual y marrón.

Productos lácteos

Tabla 17.- Aporte diario de calcio (mg) por los productos lácteos

	DH	DB	DM
Leche	400,0 ± 35,5	381,8 ± 36,6	440,1 ± 29,4
Yogur	73,1 ± 22,6	89,7 ± 22,5	55,5 ± 3,6
Queso	136,1 ± 28,3	144,8 ± 33,4	97,3 ± 8,6
Otros lácteos	60,9 ± 14,2	90,5 ± 8,5	93,1 ± 8,4
Total de lácteos	670,1 ± 50,9	720,9 ± 53,3	686,0 ± 28,0

DH: Dieta Habitual. DB: Dieta Blanca. DM: Dieta Marrón.

Valores medios ± error estándar (n = 20). Análisis de varianza de medidas repetidas:

 Longitudinal entre DH, DB y DM. No existen diferencias significativas.

 Longitudinal cruzado entre DB y DM. No existen diferencias significativas.

El calcio aportado por los productos lácteos no mostró diferencias significativas en ninguna de las dietas, aunque sí se observan ligeras variaciones con respecto a la dieta habitual, fruto de las ligeras variaciones en el consumo de los alimentos. Así, la dieta blanca aumentó la cantidad de calcio en forma de yogur, queso u otros lácteos, mientras que la marrón lo hizo preferentemente en forma de leche y otros lácteos.

Distribución del calcio

Tabla 18.- Distribución de la ingesta diaria de calcio (%) entre las distintas fuentes alimentarias

	DH	DB	DM
Carnes, huevos, pescados	5,9 ± 0,5	4,7 ± 0,3	5,3 ± 0,2
Lácteos	71,7 ± 5,0	68,8 ± 3,8	67,3 ± 2,6
Cereales	9,9 ± 0,7	10,5 ± 0,4	10,4 ± 0,4
Legumbres	1,0 ± 0,4	3,3 ± 0,2	3,3 ± 0,1
Frutas, verduras	7,1 ± 1,0	9,9 ± 0,6	8,8 ± 0,2
Agua y otras fuentes	4,4 ± 0,6	2,8 ± 0,4	4,9 ± 0,3

DH: Dieta Habitual. DB: Dieta Blanca. DM: Dieta Marrón.
Valores medios ± error estándar (n = 20).

La distribución de la ingesta diaria de calcio (%) entre las distintas fuentes alimentarias no mostró variaciones importantes entre la dieta habitual y las de la intervención nutricional, si bien existieron pequeños cambios en los que cabe destacar el incremento del calcio aportado por legumbres durante las dietas blanca y marrón y también por las frutas y verduras. La dieta blanca, por su parte, proporcionó menor cantidad de calcio en forma de “otras fuentes”, ya que, como se ha indicado, en esta dieta no se consumieron algunos alimentos ricos en calcio, como el chocolate o el cacao en polvo.

Comparando ambas dietas experimentales, los porcentajes de calcio aportados por los distintos grupos de alimentos fueron muy similares, a excepción de lo ya comentado respecto a “otras fuentes”.

Productos lácteos

Tabla 19.- Contribución de los lácteos a la ingesta diaria de calcio (%)

	DH	DB	DM
Leche	42,8 ± 3,4	37,2 ± 3,1	43,2 ± 2,6
Yogur	7,8 ± 3,0	8,7 ± 2,4	5,4 ± 0,4
Queso	14,6 ± 3,3	14,1 ± 2,9	9,6 ± 0,9
Otros lácteos	6,5 ± 1,3	8,8 ± 0,6	9,1 ± 0,8
Total de lácteos	71,7 ± 5,0	68,8 ± 3,8	67,3 ± 2,6

DH: Dieta Habitual. DB: Dieta Blanca. DM: Dieta Marrón.
Valores medios ± error estándar (n = 20).

La distribución en porcentaje del aporte lácteo fue bastante próximo entre las tres dietas, apareciendo sólo pequeñas desviaciones en la intervención nutricional respecto de la dieta habitual: la dieta blanca aportó menos calcio como leche y algo más como yogur y otros lácteos, mientras que en la marrón disminuyó algo el calcio del yogur y del queso y aumentó el de otros lácteos.

Entre las dietas experimentales, la dieta rica en productos pardos superó ligeramente a la blanca en el aporte de calcio a expensas de la leche.

3.2. Parámetros bioquímicos y del metabolismo óseo

Los parámetros determinados en suero permanecieron prácticamente inalterados en las tres dietas.

En los parámetros determinados en orina se observó un aumento significativo en la creatinina de ambas dietas experimentales y en la DPD en la dieta blanca. Por el contrario, disminuyeron significativamente las relaciones Ca/Cr, Na/Cr y P/Cr.

Entre las dietas blanca y marrón sólo se observó una diferencia significativa en la DPD, siendo inferior en la dieta rica en productos pardos.

Tabla 20.- Parámetros bioquímicos del calcio y del metabolismo óseo

	DH	DB	DM
Suero			
Ca (mg/dl)	9,9 ± 0,1	10,0 ± 0,1	9,9 ± 0,1
PTH (pg/ml)	38,4 ± 3,7	38,6 ± 4,4	38,6 ± 4,6
PA (U/l)	731 ± 58	721 ± 60	717 ± 72
Orina			
DPD (nM/Mm Cr)	9,8 ± 1,2	18,3 ± 2,1a*	13,0 ± 1,1b
Cr (mM/día)	10,0 ± 0,8	13,2 ± 1,3*	14,6 ± 1,3*
Ca/Cr (mM/mM)	0,25 ± 0,05	0,13 ± 0,02*	0,11 ± 0,02*
Na/Cr (mM/mM)	18,4 ± 1,5	11,8 ± 1,4*	9,7 ± 1,1*
Ca/Na (µM/mM)	13 ± 2	11 ± 1	10 ± 1
P/Cr (mM/mM)	2,8 ± 0,2	1,7 ± 0,1*	1,6 ± 0,2*

DH: Dieta Habitual. DB: Dieta Blanca. DM: Dieta Marrón.

PTH: Hormona Paratiroidea. PA: Fosfatasa alcalina. DPD: Desoxipiridinolina. Cr: Creatinina.

Valores medios ± error estándar (n = 20). Análisis de varianza de medidas repetidas:

□ Longitudinal entre DH, DB y DM. * indica diferencias significativas respecto a la DH.

□ Longitudinal cruzado entre DB y DM. Distintas letras indican diferencias significativas.

3.3. Balance de calcio

Ingesta

Tabla 21.- Ingesta de calcio durante el consumo de las distintas dietas

	DH	DB	DM
(mg/día)	935 ± 42	1027 ± 36	1019 ± 21
Percentil 25	789	903	934
Percentil 50	907	967	1011
Percentil 75	1061	1151	1097
(mg/kg peso/día)	17,3 ± 1,0	18,4 ± 0,9	18,4 ± 0,7
Percentil 25	13,7	14,9	15,8
Percentil 50	17,2	18,4	18,4
Percentil 75	20,8	21,9	20,3

DH: Dieta Habitual. DB: Dieta Blanca. DM: Dieta Marrón.

Valores medios ± error estándar (n = 20). Análisis de varianza de medidas repetidas:

Longitudinal entre DH, DB y DM. No existen diferencias significativas.

Longitudinal cruzado entre DB y DM. No existen diferencias significativas.

La ingesta de calcio, según los datos procedentes de los análisis de laboratorio, tendió a aumentar ligeramente con las dos dietas experimentales respecto a la de la dieta habitual, aunque las diferencias no fueron significativas. Este mismo aumento se observó en los percentiles de cada dieta.

La ingesta referida al peso de los sujetos mostró una tónica similar en el período experimental, siendo, en este caso, idénticos los valores de las dietas blanca y marrón.

Excreción fecal

Tabla 22.- Excreción fecal de calcio consumiendo las distintas dietas

	DH	DB	DM
(mg/g heces)	8,2 ± 0,9	10,6 ± 1,1a	6,8 ± 0,5b
Percentil 25	5,2	7,6	4,5
Percentil 50	7,5	9,3	7,3
Percentil 75	9,9	13,8	8,3
(mg/día)	603 ± 51	546 ± 49	583 ± 39
Percentil 25	444	312	470
Percentil 50	614	593	593
Percentil 75	732	681	676
(mg/kg peso/día)	11,4 ± 1,2	10,0 ± 1,1	10,7 ± 0,8
Percentil 25	7,3	5,2	7,7
Percentil 50	11,5	9,8	10,6
Percentil 75	15,4	14,3	13,2

DH: Dieta Habitual. DB: Dieta Blanca. DM: Dieta Marrón.

Valores medios ± error estándar (n = 20). Análisis de varianza de medidas repetidas:

□ Longitudinal entre DH, DB y DM. No existen diferencias significativas.

□ Longitudinal cruzado entre DB y DM. Distintas letras indican diferencias significativas.

La concentración de calcio en las heces, distinta en las dietas experimentales, tendió a aumentar en la dieta blanca y a disminuir en la marrón, comparadas con la habitual. La excreción fecal de calcio como mg/día y en función del peso de los sujetos, no mostró variaciones significativas en las dietas experimentales, entre si ni respecto a la dieta habitual.

Absorción

Tabla 23.- Absorción de calcio consumiendo las distintas dietas

	DH	DB	DM
(mg/día)	331 ± 44	481 ± 50	436 ± 37
Percentil 25	175	391	298
Percentil 50	378	535	429
Percentil 75	482	640	582
(mg/kg peso/día)	5,9 ± 0,8	8,4 ± 1,0	7,7 ± 0,7
Percentil 25	3,2	6,3	5,6
Percentil 50	6,2	8,4	6,7
Percentil 75	8,6	11,1	11,1

DH: Dieta Habitual. DB: Dieta Blanca. DM: Dieta Marrón.

Valores medios ± error estándar (n = 20). Análisis de varianza con medidas repetidas:

Longitudinal entre DH, DB y DM. No existen diferencias significativas.

Longitudinal cruzado entre DB y DM. No existen diferencias significativas.

La absorción de calcio mostró valores superiores durante el consumo de las dos dietas experimentales respecto de los de la dieta habitual, con las cifras más altas en la blanca, aunque el aumento no llegó a ser significativo en ninguno de los casos, tanto si se expresa como mg/día o referida al peso de los sujetos. Tal vez la falta de significación entre los datos podría ser debida a las grandes variaciones entre los sujetos del mismo grupo, o al escaso número de los mismos. Estas mismas variaciones aparecen en los percentiles de ambos parámetros, con los datos más altos en la dieta blanca, seguidos de la marrón y por último de la habitual.

Excreción urinaria

Tabla 24.- Excreción urinaria de calcio consumiendo las distintas dietas

	DH	DB	DM
(mg/ml orina)	0,09 ± 0,01	0,05 ± 0,01*	0,05 ± 0,01*
Percentil 25	0,03	0,03	0,02
Percentil 50	0,10	0,05	0,05
Percentil 75	0,15	0,08	0,07
(mg/día)	94,8 ± 12,8	64,2 ± 8,0*	52,0 ± 7,4*
Percentil 25	37,5	27,8	25,6
Percentil 50	97,9	58,5	46,7
Percentil 75	139,3	97,9	77,4
(mg/kg peso/día)	1,7 ± 0,2	1,1 ± 0,1*	0,9 ± 0,1*
Percentil 25	0,7	0,5	0,5
Percentil 50	1,7	1,1	0,9
Percentil 75	2,5	1,8	1,3

DH: Dieta Habitual. DB: Dieta Blanca. DM: Dieta Marrón.

Valores medios ± error estándar (n = 20). Análisis de varianza de medidas repetidas:

Longitudinal entre DH, DB y DM. * indica diferencias significativas respecto a la DH.

Longitudinal cruzado entre DB y DM. No existen diferencias significativas.

La excreción urinaria de calcio durante el período experimental fue significativamente menor que la habitual de los sujetos, tanto si se expresa como concentración, como mg/día o como mg/kg/día.

Entre las dietas blanca y marrón no se encontraron diferencias significativas, si bien el calcio urinario expresado en mg/día parecía algo inferior en la dieta rica en productos pardos, especialmente en los percentiles 50 y 75.

Retención

Tabla 25.- Retención de calcio consumiendo las distintas dietas

	DH	DB	DM
(mg/día)	230,7 ± 40,2	416,5 ± 51,4*	384,3 ± 36,1*
Percentil 25	86,2	319,2	232,7
Percentil 50	258,7	453,9	406,6
Percentil 75	390,8	567,8	538,3
(mg/kg peso/día)	4,0 ± 0,7	7,2 ± 1,0*	6,8 ± 0,7*
Percentil 25	1,5	5,2	4,5
Percentil 50	4,4	7,3	6,0
Percentil 75	6,0	9,8	10,3

DH: Dieta Habitual. DB: Dieta Blanca. DM: Dieta Marrón.

Valores medios ± error estándar (n = 20). Análisis de varianza de medidas repetidas:

Longitudinal entre DH, DB y DM. * indica diferencias significativas respecto a la DH.

Longitudinal cruzado entre DB y DM. No existen diferencias significativas.

La retención de calcio o balance aumentó significativamente durante el consumo de las dietas blanca y marrón comparadas con la dieta habitual de los adolescentes, en mayor medida en la dieta pobre en productos pardos. Este aumento queda reflejado en los percentiles de cada parámetro, en los que los valores superiores se observaron en la dieta blanca, seguidos de la marrón y por último de la habitual.

Eficacia de utilización

Tabla 26.- Eficacia de utilización de calcio en las distintas dietas

	DH	DB	DM
A/I (%)	35,8 ± 5,1	46,7 ± 4,9	43,3 ± 3,6
Percentil 25	22,2	37,6	31,9
Percentil 50	37,5	46,6	42,3
Percentil 75	50,2	64,3	56,6
R/I (%)	24,7 ± 4,8	40,4 ± 5,1	38,2 ± 3,6
Percentil 25	9,6	30,5	24,6
Percentil 50	28,5	43,3	40,9
Percentil 75	34,1	57,5	51,6

DH: Dieta Habitual. DB: Dieta Blanca. DM: Dieta Marrón. A: Absorbido. I: Ingerido. R: Retenido. Valores medios ± error estándar (n = 20). Análisis de varianza de medidas repetidas:

Longitudinal entre DH, DB y DM. No existen diferencias significativas.

Longitudinal cruzado entre DB y DM. No existen diferencias significativas.

La eficacia de utilización digestiva del calcio, que también llamaremos digestibilidad, coeficiente de digestibilidad o porcentaje absorbido/retenido y, en algunos casos, disponibilidad, no varió significativamente entre la dieta habitual y las experimentales. Si bien, los valores más altos de digestibilidad se observaron en la dieta blanca, seguidos de la marrón y por último de la habitual.

Las diferencias en la eficacia de utilización metabólica, que también llamaremos biodisponibilidad o porcentaje retenido/ingerido siguieron las mismas pautas que la digestibilidad, presentando a su vez las cifras más altas tras el consumo de las dietas experimentales.

Resumen de la utilización digestiva y metabólica

Tabla 27.- Resumen de la utilización digestiva de calcio consumiendo las distintas dietas

	DH	DB	DM
Ingerido (mg/día)	935 ± 42	1027 ± 36	1019 ± 21
Fecal (mg/día)	603 ± 51	546 ± 49	583 ± 39
Absorbido (mg/día)	331 ± 44	481 ± 50	436 ± 37
A/I (%)	35,8 ± 5,1	46,7 ± 4,9	43,3 ± 3,6

DH: Dieta Habitual. DB: Dieta Blanca. DM: Dieta Marrón. A: Absorbido. I: Ingerido. Valores medios ± error estándar (n = 20). Análisis de varianza de medidas repetidas:

Longitudinal entre DH, DB y DM. No existen diferencias significativas.

Longitudinal cruzado entre DB y DM. No existen diferencias significativas.

Tabla 28.- Resumen de la utilización metabólica de calcio consumiendo las distintas dietas

	DH	DB	DM
Urinario (mg/día)	94,8 ± 12,8	64,2 ± 8,0*	52,0 ± 7,4*
Retenido (mg/día)	230,7 ± 40,2	416,5 ± 51,4*	384,3 ± 36,1*
R/I (%)	24,7 ± 4,8	40,4 ± 5,1	38,2 ± 3,6

DH: Dieta Habitual. DB: Dieta Blanca. DM: Dieta Marrón. R: Retenido. I: Ingerido. Valores medios ± error estándar (n = 20). Análisis de varianza de medidas repetidas:

Longitudinal entre DH, DB y DM. * indica diferencias significativas respecto a la DH.

Longitudinal cruzado entre DB y DM. No existen diferencias significativas.

3.4. Correlaciones entre los parámetros controlados en el estudio de la utilización del calcio

En la Tabla 29 se representan las correlaciones significativas más relevantes observadas entre los parámetros del balance de calcio, las fuentes de este mineral, los parámetros bioquímicos y las medidas antropométricas.

Las correlaciones se han establecido para cada una de las dietas: habitual (H), blanca (B) y marrón (M) y considerando los datos correspondientes a las tres dietas en su conjunto, es decir, de forma global (G).

Se ofrecen los datos de los coeficientes de correlación (r), representándose la significación como (*) para valores de $p < 0,05$, (**) para valores de $p < 0,01$ y (***) para valores de $p < 0,001$.

Tabla 29.- Correlaciones del calcio

29.1.- Coeficientes de correlación entre los parámetros del balance de calcio (mg/día) y el consumo de alimentos (g/día) según el tipo de dieta

	Ca ingerido	Ca en heces	Ca absorbido	Ca en orina	Ca retenido
Carnes	NS	NS	NS	G: 0,3302**	NS
Pescado	G: 0,2707* M: 0,4441*	H: 0,5448**	NS	NS	NS
Lácteos	G: 0,6350*** H: 0,6652*** B: 0,6590** M: 0,4587*	G: 0,2957*	NS	M: -0,5331*	NS
Cereales	G: 0,5206*** H: 0,5860** M: 0,5983**	M: 0,5227*	NS	NS	NS
Legumbres	NS	NS	NS	G: -0,2729*	NS
Frutas	NS	NS	H: -0,4568*	G: -0,3092*	NS

G: Global. H: Habitual. B: Blanca. M: Marrón.
NS: No significativa. * $p < 0,05$. ** $p < 0,01$. *** $p < 0,001$.

Se observaron correlaciones significativas entre el calcio ingerido y el consumo de pescado (globalmente y en la dieta marrón), de lácteos (globalmente y en las tres dietas), y de cereales (globalmente y en las dietas habitual y marrón).

La excreción fecal estuvo correlacionada con el pescado (dieta habitual), los lácteos (globalmente) y los cereales (dieta marrón), mientras que la excreción urinaria lo hizo globalmente con las carnes, legumbres y frutas y en la dieta marrón con los lácteos.

El calcio absorbido únicamente se correlacionó, y de forma negativa, con el consumo de frutas en la dieta habitual.

El resto de las correlaciones no fueron significativas.

29.2.- Coeficientes de correlación entre la ingesta de calcio y los demás parámetros del balance de calcio (mg/día) según el tipo de dieta

	Ca en heces	Ca absorbido	Ca en orina	Ca retenido
Ca ingerido	G: 0,4201*** H: 0,5699** M: 0,5149*	G: 0,3295**	NS	G: 0,3192**

G: Global. H: Habitual. M: Marrón. NS: No significativa. * $p < 0,05$. ** $p < 0,01$. *** $p < 0,001$.

La ingesta de calcio estuvo correlacionada significativamente con el calcio fecal (globalmente y en las dietas habitual y marrón), y de forma global, con el calcio absorbido y el retenido.

29.3.- Coeficientes de correlación entre los parámetros bioquímicos y del balance de calcio (mg/día) según el tipo de dieta

	DPD	Ca/Cr	PA	Na/Cr	Ca/Na	P/Cr
Ca ingerido	NS	NS	NS	NS	NS	H: 0,4680*
Ca en heces	H: -0,5158*	NS	NS	NS	NS	NS
Ca absorbido	NS	H: 0,5092*	NS	NS	NS	NS
Ca en orina	M: -0,5556*	G: 0,7824*** H: 0,7942*** B: 0,7595*** M: 0,8621***	G: -0,4051** H: -0,4653* B: -0,5276*	G: 0,4211**	G: 0,8129*** H: 0,8063*** B: 0,7461*** M: 0,9142***	G: 0,4651***
Ca retenido	NS	NS	NS	NS	NS	NS

G: Global. H: Habitual. B: Blanca. M: Marrón.

NS: No significativa. * $p < 0,05$. ** $p < 0,01$. *** $p < 0,001$.

DPD: Desoxipiridinolina. Cr: Creatinina. PA: Fosfatasa alcalina.

Entre los parámetros bioquímicos y los del metabolismo del calcio, se observaron correlaciones significativas en la dieta habitual entre calcio ingerido y P/Cr, calcio fecal y DPD, y entre calcio absorbido y Ca/Cr.

Por su parte, la excreción urinaria estuvo correlacionada con la DPD (dieta marrón), con Na/Cr y P/Cr (globalmente), con Ca/Cr y Ca/Na (de forma global y en cada una de las dietas) y con la fosfatasa alcalina (globalmente y en las dietas blanca y habitual).

29.4.- **Coefficientes de correlación entre los parámetros bioquímicos, del balance de calcio (mg/día) y las medidas antropométricas según el tipo de dieta**

	Peso	ΔPeso	Talla	ΔTalla
Ca absorbido	B: 0,7075*	NS	NS	NS
Ca retenido	B: 0,7080*	NS	NS	NS
A/I	B: 0,7894*	NS	NS	B: 0,6775*
R/I	B: 0,7851*	NS	NS	NS
Ca sérico	NS	NS	G: 0,5711** M: 0,6969*	NS
PA	NS	NS	NS	G: 0,7315*** B: 0,7767* M: 0,8272**
Creatinina	NS	NS	G: 0,5983** M: 0,6659*	NS
Na/Cr	NS	M: 0,7426*	H: 0,4564*	NS

G: Global. B: Blanca. ΔPeso: Incremento de peso. ΔTalla: Incremento de la talla.
NS: No significativa. * p < 0,05. ** p < 0,01. *** p < 0,001.

Se observaron correlaciones significativas entre el peso de los sujetos y el calcio absorbido, retenido, índice absorbido/ingerido, retenido/ingerido y creatinina en la dieta blanca. El incremento de peso únicamente estuvo correlacionado con Na/Cr en la dieta marrón.

Así mismo estuvieron correlacionadas significativamente la talla con el calcio sérico y la creatinina (de forma global y en la dieta marrón), y con Na/Cr (dieta habitual). El incremento de talla se correlacionó con el índice absorbido/ingerido (dieta blanca) y con la fosfatasa alcalina (globalmente y en las dietas blanca y marrón).

4. HIERRO

4.1. Fuentes de hierro

Aporte de hierro

La contribución de las distintas fuentes alimentarias a la ingesta diaria de hierro durante el consumo de las distintas dietas, se recoge en las Tablas 30 y 31, expresando los valores como mg/día y como porcentaje de hierro, respectivamente.

Tabla 30.- Aporte diario de hierro (mg) de las distintas fuentes alimentarias

	DH	DB	DM
Carnes, pescados	4,40 ± 0,42	3,75 ± 0,32a	2,84 ± 0,16b*
Huevos	0,62 ± 0,09	0,22 ± 0,03a*	0,64 ± 0,05b
Lácteos	0,46 ± 0,04	0,49 ± 0,04	0,47 ± 0,02
Cereales	5,14 ± 0,42	5,65 ± 0,18a	9,68 ± 0,53b*
Legumbres	0,58 ± 0,21	1,83 ± 0,07*	1,73 ± 0,08*
Frutas, verduras	1,56 ± 0,16	2,26 ± 0,11a*	1,87 ± 0,09b
Otros (cacao, etc.)	2,64 ± 0,60	-	1,51 ± 0,39

DH: Dieta Habitual. DB: Dieta Blanca. DM: Dieta Marrón.

Valores medios ± error estándar (n = 20): Análisis de varianza de medidas repetidas:

□ Longitudinal entre DH, DB y DM. * indica diferencias significativas respecto a la DH.

□ Longitudinal cruzado entre DB y DM. Distintas letras indican diferencias significativas.

Durante el período experimental disminuyó el hierro aportado por las carnes, significativamente en la dieta marrón; así mismo aumentó el aportado por legumbres, cereales y frutas y verduras, siendo significativo en ambas dietas para las legumbres, en la marrón para los cereales, y en la dieta blanca para frutas y verduras.

Otra diferencia observada al comparar las dietas experimentales con la dieta habitual es la disminución significativa de la contribución de los huevos a la ingesta diaria de hierro en la dieta blanca, así como la ausencia del mineral

aportado por “otras fuentes” en dicha dieta. A este respecto, las dietas habitual y marrón se asemejaron en mayor medida.

Comparándose las dos etapas del período experimental, la dieta rica en productos pardos contribuyó de forma significativamente mayor al aporte de hierro a partir de huevos y cereales, mientras que la dieta pobre en dichos productos lo hizo con las carnes y pescados y las frutas y verduras. El hierro aportado por lácteos y legumbres no mostró diferencias entre ambas dietas, al contrario que el suministrado por otras fuentes, ausente en la dieta pobre en productos pardos.

Distribución del hierro

Tabla 31.- **Distribución de la ingesta diaria de hierro (%) entre las distintas fuentes alimentarias**

	DH	DB	DM
Carnes, pescados	28,6 ± 1,8	26,4 ± 1,5	15,1 ± 0,8
Huevos	4,0 ± 0,5	1,6 ± 0,2	3,5 ± 0,3
Lácteos	3,0 ± 0,3	3,4 ± 0,3	2,5 ± 0,1
Cereales	33,4 ± 2,1	39,8 ± 2,6	51,6 ± 1,2
Legumbres	3,8 ± 0,3	12,9 ± 1,2	9,2 ± 0,7
Frutas, verduras	10,1 ± 1,1	15,9 ± 0,7	10,0 ± 0,6
Otros (cacao, etc.)	17,1 ± 1,9	-	8,1 ± 0,5

DH: Dieta Habitual. DB: Dieta Blanca. DM: Dieta Marrón.
Valores medios ± error estándar (n = 20).

El porcentaje de hierro aportado por las distintas fuentes alimentarias en las dietas experimentales fue inferior en carnes, pescados y huevos, así como en lácteos durante el consumo de la dieta marrón. Por el contrario, se observó un aumento en el porcentaje de hierro aportado por cereales y legumbres en ambas dietas, y por frutas y verduras en la dieta blanca. La contribución de “otras fuentes” a la ingesta diaria de hierro, ausente en la dieta blanca, disminuyó en la

marrón respecto de la habitual, fundamentalmente debido al mayor consumo de hierro en la dieta marrón.

4.2. Parámetros hematológicos y bioquímicos

Tabla 32.- Parámetros hematológicos y bioquímicos tras el consumo de las distintas dietas

32.1.- Parámetros hematológicos

	DH	DB	DM
Hematíes (millones/ml)	5,2 ± 0,1	5,2 ± 0,1	5,1 ± 0,1
Percentil 25	5,1	4,9	4,9
Percentil 50	5,2	5,1	5,2
Percentil 75	5,4	5,4	5,4
Hemoglobina (g/dl)	15,1 ± 0,2	15,0 ± 0,2	15,0 ± 0,2
Percentil 25	14,2	14,6	14,3
Percentil 50	15,0	15,0	14,9
Percentil 75	15,8	15,7	15,6
Hematocrito (%)	43 ± 1	43 ± 0	43 ± 1
Percentil 25	42	42	41
Percentil 50	43	43	43
Percentil 75	44	44	45

DH: Dieta Habitual. DB: Dieta Blanca. DM: Dieta Marrón.

Valores medios ± error estándar (n = 20). Análisis de varianza de medidas repetidas:

Longitudinal entre DH, DB y DM. No existen diferencias significativas.

Longitudinal cruzado entre DB y DM. No existen diferencias significativas.

Los parámetros hematológicos permanecieron prácticamente inalterados durante el consumo de las dietas experimentales, reflejado tanto en las medias como en los percentiles de hematíes, hemoglobina y hematocrito.

32.2.- Parámetros bioquímicos

	DH	DB	DM
Ferritina (µg/l)	34 ± 3	41 ± 4	37 ± 4
Percentil 25	23	28	25
Percentil 50	32	38	31
Percentil 75	40	56	49
Transferrina (mg/dl)	310 ± 9	307 ± 7	309 ± 8
Percentil 25	272	289	291
Percentil 50	312	307	304
Percentil 75	338	324	339
Fe sérico (µg/dl)	78 ± 9	76 ± 5	79 ± 6
Percentil 25	48	58	53
Percentil 50	69	65	81
Percentil 75	104	101	96

DH: Dieta Habitual. DB: Dieta Blanca. DM: Dieta Marrón.

Valores medios ± error estándar (n = 20). Análisis de varianza de medidas repetidas:

Longitudinal entre DH, DB y DM. No existen diferencias significativas.

Longitudinal cruzado entre DB y DM. No existen diferencias significativas.

Entre los parámetros bioquímicos también se manifiesta estabilidad, aunque puede apreciarse que los mayores valores de ferritina aparecen en las dietas experimentales, especialmente en la dieta blanca. La transferrina y el hierro sérico permanecieron prácticamente inalterados en las tres dietas.

4.3. Balance de hierro

Ingesta

Tabla 33.- Ingesta de hierro durante el consumo de las distintas dietas

	DH	DB	DM
(mg/día)	15,40 ± 0,65	14,20 ± 0,34a	18,74 ± 0,41b*
Percentil 25	13,03	12,75	17,49
Percentil 50	15,93	14,54	18,78
Percentil 75	17,50	15,67	20,23
(mg/kg peso/día)	0,28 ± 0,02	0,25 ± 0,01a	0,34 ± 0,01b*
Percentil 25	0,21	0,22	0,29
Percentil 50	0,27	0,25	0,34
Percentil 75	0,34	0,29	0,39

DH: Dieta Habitual. DB: Dieta Blanca. DM: Dieta Marrón.

Valores medios ± error estándar (n = 20). Análisis de varianza de medidas repetidas:

□ Longitudinal entre DH, DB y DM. * indica diferencias significativas respecto a la DH.

□ Longitudinal cruzado entre DB y DM. Distintas letras indican diferencias significativas.

Con respecto a la dieta habitual de los adolescentes, la ingesta de hierro según los datos procedentes del análisis de laboratorio, no varió en la dieta blanca y aumentó de forma significativa en la marrón, tanto en mg/día como referida al peso de los sujetos. Los percentiles reflejan estas diferencias, siendo superiores los de la dieta rica en productos pardos, seguidos de los de la habitual y por último de los de la dieta blanca.

Los mayores valores de ingesta de la dieta marrón también difieren significativamente de la dieta blanca cuando se comparan ambas dietas experimentales.

Excreción fecal

Tabla 34.- Excreción fecal de hierro consumiendo las distintas dietas

	DH	DB	DM
(mg/g heces)	0,19 ± 0,02	0,12 ± 0,01a*	0,16 ± 0,01b
Percentil 25	0,12	0,09	0,12
Percentil 50	0,18	0,12	0,14
Percentil 75	0,19	0,15	0,19
(mg/día)	14,34 ± 0,76	9,76 ± 0,58a*	16,76 ± 1,11b
Percentil 25	11,63	7,18	13,52
Percentil 50	14,15	9,70	16,10
Percentil 75	16,69	11,90	18,86
(mg/kg peso/día)	0,26 ± 0,02	0,17 ± 0,01a*	0,30 ± 0,02b
Percentil 25	0,19	0,12	0,21
Percentil 50	0,24	0,18	0,30
Percentil 75	0,31	0,20	0,34

DH: Dieta Habitual, DB: Dieta Blanca, DM: Dieta Marrón.

Valores medios ± error estándar (n = 20). Análisis de varianza de medidas repetidas:

□ Longitudinal entre DH, DB y DM. * indica diferencias significativas respecto a la DH.

□ Longitudinal cruzado entre DB y DM. Distintas letras indican diferencias significativas.

Durante la intervención nutricional disminuyó la concentración fecal de hierro comparada con la dieta habitual de los adolescentes, aunque significativamente sólo en la dieta blanca, por eso esta disminución queda reflejada en los percentiles de la dieta blanca y no en los de la marrón, ya que, salvo el percentil 50, el 25 y el 75 coinciden con los de la dieta habitual.

La excreción fecal del mineral expresada en mg/día y referida al peso de los sujetos disminuyó significativamente en la dieta blanca respecto de la habitual, mientras que la marrón tendió a aumentar, aunque sin alcanzar diferencias significativas.

Al comparar las dos dietas experimentales se observaron diferencias significativas en todos los casos, presentando la dieta blanca menores valores y la marrón excreciones superiores de hierro.

Absorción

Tabla 35.- Absorción de hierro consumiendo las distintas dietas

	DH	DB	DM
(mg/día)	1,38 ± 0,74	4,43 ± 0,60a*	1,98 ± 1,06b
Percentil 25	-0,62	2,96	-1,19
Percentil 50	1,38	4,40	2,31
Percentil 75	4,63	5,82	5,23
(mg/kg peso/día)	0,02 ± 0,01	0,08 ± 0,01*	0,04 ± 0,02
Percentil 25	-0,01	0,06	-0,01
Percentil 50	0,02	0,08	0,05
Percentil 75	0,07	0,11	0,09

DH: Dieta Habitual. DB: Dieta Blanca. DM: Dieta Marrón.

Valores medios ± error estándar (n = 20). Análisis de varianza de medidas repetidas:

□ Longitudinal entre DH, DB y DM. * indica diferencias significativas respecto a la DH.

□ Longitudinal cruzado entre DB y DM. Distintas letras indican diferencias significativas.

La dieta blanca aumentó la absorción de hierro respecto de la dieta habitual, tanto en mg/día como referida al peso de los sujetos.

En la dieta marrón, sobre todo en los percentiles superiores, parece apreciarse una tendencia en el mismo sentido, aunque mucho más leve.

Los valores de absorción de las dos dietas experimentales difirieron significativamente, siendo mayores los de la dieta blanca. Tras el consumo de dicha dieta se produjo un importante aumento del hierro absorbido, tanto que el percentil 25 es del orden, incluso supera el valor del percentil 50 de la dieta marrón.

Excreción urinaria

La excreción urinaria de hierro disminuyó de forma significativa tras el consumo de las dietas experimentales comparada con la dieta habitual de los sujetos, tanto en concentración ($\mu\text{g/ml}$ orina) como en excreción diaria del mineral ($\mu\text{g/día}$ y $\mu\text{g/kg/día}$).

Tras el consumo de la dieta blanca se apreciaron los valores más bajos de concentración de hierro en la orina, siendo incluso distintos significativamente respecto de la marrón al expresarse como $\mu\text{g/ml}$ orina. Estas diferencias desaparecen al referirse al mineral excretado diariamente y referido al peso de los sujetos.

Tabla 36.- Excreción urinaria de hierro consumiendo las distintas dietas

	DH	DB	DM
($\mu\text{g/ml}$ orina)	$0,08 \pm 0,01$	$0,04 \pm 0,00a^*$	$0,05 \pm 0,00b^*$
Percentil 25	0,06	0,03	0,03
Percentil 50	0,07	0,04	0,05
Percentil 75	0,08	0,05	0,06
($\mu\text{g/día}$)	83 ± 5	$49 \pm 3^*$	$53 \pm 4^*$
Percentil 25	64	39	39
Percentil 50	79	51	51
Percentil 75	107	57	69
($\mu\text{g/kg}$ peso/día)	$1,52 \pm 0,11$	$0,87 \pm 0,06^*$	$0,95 \pm 0,07^*$
Percentil 25	1,22	0,71	0,73
Percentil 50	1,49	0,87	0,94
Percentil 75	1,80	1,08	1,17

DH: Dieta Habitual. DB: Dieta Blanca. DM: Dieta Marrón.

Valores medios \pm error estándar (n = 20). Análisis de varianza de medidas repetidas:

 Longitudinal entre DH, DB y DM. * indica diferencias significativas respecto a la DH.

 Longitudinal cruzado entre DB y DM. Distintas letras indican diferencias significativas.

Retención

Tabla 37.- Retención de hierro consumiendo las distintas dietas

	DH	DB	DM
(mg/día)	1,30 ± 0,74	4,38 ± 0,57a*	1,93 ± 1,06b
Percentil 25	-0,71	2,91	-1,24
Percentil 50	1,30	4,30	2,29
Percentil 75	4,58	5,76	5,17
(mg/kg peso/día)	0,02 ± 0,01	0,08 ± 0,01*	0,04 ± 0,02
Percentil 25	0,01	0,06	-0,01
Percentil 50	0,02	0,08	0,04
Percentil 75	0,07	0,11	0,09

DH: Dieta Habitual. DB: Dieta Blanca. DM: Dieta Marrón.

Valores medios ± error estándar (n = 20). Análisis de varianza de medidas repetidas:

□ □ □ Longitudinal entre DH, DB y DM. * indica diferencias significativas respecto a la DH.

□ □ □ Longitudinal cruzado entre DB y DM. Distintas letras indican diferencias significativas.

La retención de hierro aumentó durante el consumo de la dieta blanca respecto de la habitual. Los percentiles de la dieta pobre en productos pardos se mostraron igualmente superiores a los de las otras, siendo el valor del percentil 25 de la dieta blanca incluso superior a los percentiles 50 de la habitual y la marrón, tanto en mg/día como en función del peso de los sujetos.

La dieta blanca fue significativamente mayor que la marrón al expresar los resultados de retención en mg/día, diferencia que no llega a ser significativa al referir dichos resultados en función del peso de los adolescentes. Con esta forma de expresión, los percentiles 25 y 50 fueron claramente superiores en la dieta blanca, mientras que el 75 se aproxima al de la dieta marrón.

Eficacia de utilización

Tabla 38.- Eficacia de utilización de hierro en las distintas dietas

	DH	DB	DM
A/I (%)	7,8 ± 4,5	31,2 ± 3,8a*	10,6 ± 5,6b
Percentil 25	-3,6	22,2	-7,9
Percentil 50	7,8	31,0	13,0
Percentil 75	27,5	47,4	27,1
R/I (%)	7,2 ± 4,5	30,9 ± 3,8a*	10,3 ± 5,6b
Percentil 25	-4,1	21,9	-8,2
Percentil 50	7,2	30,6	12,8
Percentil 75	27,2	46,8	26,8

DH: Dieta Habitual. DB: Dieta Blanca. DM: Dieta Marrón. A: Absorbido. I: Ingerido. R: Retenido. Valores medios ± error estándar (n = 20). Análisis de varianza de medidas repetidas:

□ □ □ Longitudinal entre DH, DB y DM. * indica diferencias significativas respecto a la DH.

□ □ Longitudinal cruzado entre DB y DM. Distintas letras indican diferencias significativas.

Tanto la digestibilidad (% absorbido/ingerido) como la biodisponibilidad del hierro (% retenido/ingerido) aumentaron tras el consumo de las dietas experimentales respecto de la dieta habitual, en mayor medida y de forma significativa en la blanca, reflejado en los percentiles, ya que esta última dieta mostró valores bastante superiores a los de la habitual y la marrón.

Al comparar las dos dietas experimentales también se observan diferencias significativas, siendo tanto la digestibilidad como la biodisponibilidad del mineral, mayores en la dieta blanca.

Resumen de la utilización digestiva y metabólica

Tabla 39.- Resumen de la utilización digestiva de hierro consumiendo las distintas dietas

	DH	DB	DM
Ingerido (mg/día)	15,40 ± 0,65	14,20 ± 0,34a	18,74 ± 0,41b*
Fecal (mg/día)	14,34 ± 0,76	9,76 ± 0,58a*	16,76 ± 1,11b
Absorbido (mg/día)	1,38 ± 0,74	4,43 ± 0,60a*	1,98 ± 1,06b
A/I (%)	7,8 ± 4,5	31,2 ± 3,8a*	10,6 ± 5,6b

DH: Dieta Habitual. DB: Dieta Blanca. DM: Dieta Marrón. A: Absorbido. I: Ingerido.
Valores medios ± error estándar (n = 20). Análisis de varianza de medidas repetidas:

- Longitudinal entre DH, DB y DM. * indica diferencias significativas respecto a la DH.
- Longitudinal cruzado entre DB y DM. Distintas letras indican diferencias significativas.

Tabla 40.- Resumen de la utilización metabólica de hierro consumiendo las distintas dietas

	DH	DB	DM
Urinario (µg/día)	83 ± 5	49 ± 3*	53 ± 4*
Retenido (mg/día)	1,30 ± 0,74	4,38 ± 0,57a*	1,93 ± 1,06b
R/I (%)	7,2 ± 4,5	30,9 ± 3,8a*	10,3 ± 5,6b

DH: Dieta Habitual. DB: Dieta Blanca. DM: Dieta Marrón. R: Retenido. I: Ingerido.
Valores medios ± error estándar (n = 20). Análisis de varianza de medidas repetidas:

- Longitudinal entre DH, DB y DM. * indica diferencias significativas respecto a la DH.
- Longitudinal cruzado entre DB y DM. Distintas letras indican diferencias significativas.

4.4. Correlaciones entre los parámetros controlados en el estudio de la utilización del calcio

Al igual que en el calcio, en la Tabla 41 se representan las correlaciones significativas más relevantes observadas entre los parámetros del balance de hierro, las fuentes de este mineral, los parámetros hematológicos y bioquímicos y las medidas antropométricas.

Las correlaciones se han establecido para cada una de las dietas: habitual (H), blanca (B) y marrón (M) y considerando los datos correspondientes a las tres dietas en su conjunto, es decir, de forma global (G).

Se ofrecen los datos de los coeficientes de correlación (r), representándose la significación como (*) para valores de $p < 0,05$, (**) para valores de $p < 0,01$ y (***) para valores de $p < 0,001$.

Tabla 41.- Correlaciones del hierro

41.1.- Coeficientes de correlación entre los parámetros del balance de hierro (mg/día) y el consumo de alimentos (g/día) según el tipo de dieta

	Fe ingerido	Fe en heces	Fe absorbido	Fe en orina	Fe retenido
Carnes	NS	H: 0,4854*	NS	G: 0,3462**	NS
Huevos	G: 0,3661**	G: 0,2774* B: 0,5194*	NS	NS	NS
Pescado	G: 0,2900* M: 0,4672*	B: 0,4743*	NS	G: -0,4354***	NS
Lácteos	NS	NS	NS	G: -0,2898*	NS
Cereales	G: 0,3328** B: 0,5258* M: 0,6308**	NS	NS	G: -0,3545**	NS
Legumbres	M: 0,5036*	NS	B: 0,5008*	G: -0,3346**	B: 0,4993*
Frutas	NS	NS	NS	G: -0,4220***	NS
Verduras	B: 0,4871* M: 0,5515*	NS	NS	NS	NS

G: Global. H: Habitual. B: Blanca. M: Marrón.
NS: No significativa. * $p < 0,05$. ** $p < 0,01$. *** $p < 0,001$.

El hierro ingerido se correlacionó significativamente con el consumo de huevos (globalmente), de pescado (globalmente y en la dieta marrón), de cereales (globalmente y en las dietas blanca y marrón), de legumbres (dieta marrón) y de verduras (dietas blanca y marrón).

La excreción fecal estuvo correlacionada con las carnes (dieta habitual), los huevos (globalmente y en la dieta blanca) y el pescado (dieta blanca), mientras que la excreción urinaria lo hizo globalmente con las carnes, pescado, lácteos, cereales, legumbres y frutas.

Tanto el hierro absorbido como el retenido únicamente se correlacionaron con el consumo de legumbres en la dieta blanca.

El resto de las correlaciones no fueron significativas.

41.2.- Coeficientes de correlación entre la ingesta, la orina y los demás parámetros del balance de hierro (mg/día) según el tipo de dieta

	Fe en heces	Fe absorbido	Fe en orina	Fe retenido
Fe ingerido	G: 0,5487*** B: 0,4428*	NS	H: -0,4632*	NS
Fe en orina	NS	G: -0,3836**	-	G: -0,3889**

G: Global. H: Habitual. B: Blanca. NS: No significativa. * p < 0,05. ** p < 0,01. *** p < 0,001.

La ingesta de hierro estuvo correlacionada significativamente con el hierro fecal (globalmente y en la dieta blanca), y en la dieta habitual y de forma negativa, con el hierro excretado en la orina.

La excreción urinaria de hierro, por su parte, se correlacionó negativamente con el hierro absorbido y retenido de forma global.

41.3.- Coeficientes de correlación entre los parámetros bioquímicos y del balance de hierro (mg/día) según el tipo de dieta

	Hematíes	Hemoglobina	Hematocrito	Ferritina	Transferrina	Fe sérico
Fe ingerido	NS	NS	NS	G: -0,2883*	NS	NS
Fe en heces	M: -0,5063*	M: -0,4766*	M: -0,5253*	NS	M: -0,5488*	NS
Fe absorbido	G: 0,3213* M: 0,5190*	B: 0,5017*	B: 0,6114**	NS	M: 0,4937*	M: 0,5507*
Fe en orina	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Fe retenido	G: 0,3207* M: 0,5189*	B: 0,5075*	B: 0,6116**	NS	M: 0,4947*	M: 0,5503*
A/I	G: 0,2995* M: 0,5271*	B: 0,4834*	B: 0,5759*	NS	M: 0,5022*	M: 0,5221*
R/I	G: 0,2992* M: 0,5269*	B: 0,4851*	B: 0,5774*	NS	M: 0,5032*	M: 0,5219*

G: Global. B: Blanca. M: Marrón. A: Absorbido. I: Ingerido. R: Retenido. NS: No significativa.

* $p < 0,05$. ** $p < 0,01$. * $p < 0,001$.

Entre los parámetros bioquímicos y los del balance del hierro se observaron correlaciones significativas en la dieta marrón, entre el hierro fecal y los hematíes, la hemoglobina, el hematocrito y la transferrina, así como entre el hierro absorbido, el retenido y los índices absorbido/ingerido y retenido/ingerido con la transferrina y el hierro sérico.

De forma global se correlacionaron negativamente, el hierro ingerido y la ferritina.

Por su parte, el calcio absorbido, el retenido, así como la eficacia de absorción y de retención se correlacionaron en la dieta blanca con la hemoglobina y el hematocrito, y de forma global y en la dieta marrón, con los hematíes.

41.4.- **Coefficientes de correlación entre los parámetros bioquímicos, del balance de hierro (mg/día) y las medidas antropométricas según el tipo de dieta**

	Peso	ΔPeso	Talla	ΔTalla
Fe absorbido	NS	G: -0,5109* M: -0,8511**	G: 0,5325* B: 0,7075*	NS
Fe retenido	NS	G: -0,5096* M: -0,8515**	G: 0,5309* B: 0,7080*	NS
A/I	NS	G: -0,6476** M: -0,8531**	G: 0,5644* B: 0,7894*	NS
R/I	NS	G: -0,6449** M: -0,8534**	G: 0,5641* B: 0,7851*	NS
Hematíes	G: 0,4975* M: 0,7403*	NS	NS	NS
Hemoglobina	NS	NS	G: 0,5016* H: 0,7099*** B: 0,7703*	NS
Hematocrito	NS	NS	G: 0,5468* H: 0,5957** B: 0,7330*	M: -0,6814*

G: Global. B: Blanca. ΔPeso: Incremento de peso. ΔTalla: Incremento de la talla.

A: Absorbido. I: Ingerido. R: Retenido. NS: No significativa. * $p < 0,05$. ** $p < 0,01$. *** $p < 0,001$.

De forma global y en la dieta marrón se observaron correlaciones significativas entre el peso de los sujetos y el número de hematíes, y entre el incremento de peso y el hierro absorbido, retenido, índice absorbido/retenido e índice retenido/ingerido.

La talla, por su parte, estuvo correlacionada globalmente y en la dieta blanca con el hierro absorbido, retenido, índice absorbido/retenido e índice retenido/ingerido. Igualmente se observó una correlación entre la talla y la hemoglobina y el hematocrito de forma global y en las dietas habitual y blanca.

El incremento de la talla únicamente se correlacionó, y de forma negativa, con el hematocrito en la dieta marrón.

II. ENSAYOS IN VITRO

1. Ensayos de solubilidad

A continuación se exponen los resultados de solubilidad del calcio y del hierro tras la digestión in vitro de las dos dietas experimentales.

Calcio

Tabla 42.- **Distribución del calcio en las fracciones soluble e insoluble tras la digestión in vitro de las dietas**

Etapa	(mg / 100 g comida*)		(%)		Recuperación (%)
	Soluble	Insoluble	Soluble	Insoluble	
DB	5,00 ± 2,10	41,98 ± 2,62	10,04 ± 2,61	89,96 ± 2,61	96,01 ± 6,82
DM	8,16 ± 4,33	41,94 ± 2,32	15,01 ± 6,18	84,99 ± 6,18	98,94 ± 2,81

DB: Dieta Blanca. DM: Dieta Marrón. Valores medios ± desviación estándar (n = 6).

Anova de 1 vía y Test de Duncan. No existen diferencias significativas.

* Los datos son referidos a las comidas como sustancia fresca.

La solubilidad del calcio tras la digestión in vitro de las dietas experimentales expresada como cantidad y como porcentaje, no difirió significativamente entre las dietas, si bien existieron algunas variaciones, en parte justificadas por la diferencia en los porcentajes de recuperación.

Hierro

Las dietas experimentales presentaron un contenido equivalente de hierro soluble tras la digestión in vitro, mientras que el hierro insoluble fue significativamente mayor en la dieta marrón.

Al distribuir el hierro en porcentaje de solubilidad, se observaron diferencias significativas tanto en el hierro soluble, inferior en la dieta marrón, como en el hierro insoluble, inferior en la dieta blanca.

Tabla 43.- **Distribución del hierro en las fracciones soluble e insoluble tras la digestión in vitro de las dietas**

Etapa	(mg / 100 g comida*)		(%)		Recuperación (%)
	Soluble	Insoluble	Soluble	Insoluble	
DB	0,43 ± 0,09	0,32 ± 0,10a	58,67 ± 5,10a	41,33 ± 5,10a	102,08 ± 11,63
DM	0,42 ± 0,09	0,79 ± 0,19b	36,82 ± 4,72b	63,18 ± 4,72b	91,9 ± 9,85

DB: Dieta Blanca. DM: Dieta Marrón. Valores medios ± desviación estándar (n = 6).

Anova de 1 vía y Test de Duncan. Distintas letras indican diferencias significativas.

* Los datos son referidos a las comidas como sustancia fresca.

2. Ensayos de transporte en células Caco-2

El transporte de calcio y de hierro en células Caco-2 utilizando los sobrenadantes tras la digestión in vitro de las dietas experimentales se representa en las Tablas 44 y 45.

El porcentaje de transporte del mineral se calcula en función de los μg iniciales puestos en los pocillos. La disponibilidad se calcula teniendo en cuenta la solubilidad del mineral tras la digestión in vitro y la proporción que se absorbe del mismo en los experimentos realizados con cultivos celulares.

Calcio

Tabla 44.- **Transporte del calcio en células Caco-2**

Etapa	μg iniciales/pocillo	μg transportados/pocillo*	% Transporte*	% Disponibilidad*
DB	11,10 ± 0,24	1,40 ± 0,07	12,58 ± 0,64	1,26 ± 0,15
DM	11,97 ± 0,11	1,52 ± 0,20	12,65 ± 1,65	1,90 ± 0,35

DB: Dieta Blanca. DM: Dieta Marrón. Valores medios ± error estándar (n = 3).

Anova de 1 vía y Test de Duncan. No existen diferencias significativas.

* Los resultados se refieren a los obtenidos para la superficie del pocillo ($4,7 \text{ cm}^2$).

El transporte de calcio, tanto en cantidad como en porcentaje, así como la disponibilidad del mismo en las dos dietas experimentales no mostraron diferencias significativas en ninguno de los casos.

Hierro

Tabla 45.- Transporte del hierro en células Caco-2

Etapa	µg iniciales/pocillo	µg transportados/pocillo*	% Transporte*	% Disponibilidad*
DB	1,76 ± 0,01a	1,41 ± 0,01	22,01 ± 0,42	12,92 ± 0,37a
DM	1,44 ± 0,07b	1,39 ± 0,02	25,87 ± 1,56	9,52 ± 0,41b

DB: Dieta Blanca. DM: Dieta Marrón. Valores medios ± error estándar (n = 3).

Anova de 1 vía y Test de Duncan. Distintas letras indican diferencias significativas.

* Los resultados se refieren a los obtenidos para la superficie del pocillo (4,7 cm²).

El contenido de hierro inicial en los pocillos fue significativamente menor en la dieta marrón que en la dieta blanca, debido a las diferencias en la solubilidad del mineral, diferencia que desapareció al calcular la cantidad de mineral transportado. Al expresar el transporte en porcentaje se aprecia un aumento en la dieta marrón, sin llegar a ser significativo, mientras que como porcentaje de disponibilidad, en la dieta blanca se observa un resultado significativamente mayor comparado con la dieta marrón.

Discusión

Discusión

1. DIETAS Y ALIMENTOS CONSUMIDOS. INGESTA DE ENERGÍA Y MACRONUTRIENTES

1.1. Dieta habitual de los adolescentes que realizaron el estudio

Nuestro propósito en este trabajo no ha sido hacer un estudio de la dieta que consumen los adolescentes, ni siquiera la de los granadinos, sino simplemente conocer la dieta que tomaba habitualmente el colectivo utilizado en el ensayo, aproximarnos a sus hábitos alimentarios, a sus preferencias de consumo, para utilizarlos como referente en el diseño de las dietas experimentales.

Todos los adolescentes encuestados desayunaban a diario (Tabla 9), resultado en línea o incluso superior a los obtenidos por Serra-Majem y col. (2004b) en chicos de 2-14 años, o a los de De Rufino Rivas y col. (2005) en adolescentes de Cantabria, quienes detectan un 2,5% y un 5% de ausencia de desayuno, respectivamente.

Tal como es habitual en la dieta española del adolescente (Aranceta Bartrina y col., 2000; De Rufino Rivas y col., 2005), el alimento preferencial en el desayuno era la leche, frecuentemente adicionada de cacao en polvo, acompañada de cereales de desayuno y, en menor medida, de tostadas o bollería. Un porcentaje muy elevado señalaba que les gustan los cereales de desayuno, lo que se considera una asociación ventajosa para la salud (Ruxton y col., 1996; Serra Majem y col., 2000). En la preparación de estos alimentos el desarrollo de la reacción de Maillard es claro, como se refleja en su contenido en hidroximetilfurfural (Rufián-Henares y col., 2006). Igualmente el cacao, bollería y tostadas contienen cantidades importantes de PRM, por lo que cabe pensar que el desayuno contribuye de forma evidente al aporte de productos pardos a la dieta.

El perfil de preferencias alimentarias se asemeja al de la población española de igual edad y sexo (Pérez Rodrigo y col., 2002), en el que la pasta ocupa el primer lugar, en nuestro colectivo con la pizza como alimento destacado, seguido por la carne y las patatas. Se separan algo más en lo que se refiere a rechazos alimentarios, ya que entre los alimentos que menos les gustan no aparecen las verduras en los primeros lugares, ocupados por las vísceras, pescado y legumbres, los dos últimos en orden inverso al de la población adolescente global.

De los hábitos de vida sólo señalaremos que casi el 80% de los chicos de los ensayos dedicaba aproximadamente el doble de tiempo, o incluso 3 ó 4 veces más, a ver la televisión y jugar con videojuegos que a hacer deporte. Estos datos concuerdan con las tendencias actuales de la población infantil-juvenil española, que pasa unas 3 horas diarias en dichas actividades (Fernández San Juan, 2006), y se señalan porque, además del sedentarismo que ello implica, con la consiguiente reducción del gasto energético, supone con frecuencia una ingesta adicional de *snacks*, productos ricos en energía y PRM, con baja densidad de nutrientes (Ballabriga y Carrascosa, 2006), lo cual se aleja de los hábitos alimentarios más saludables. Concretamente, por lo que al hierro se refiere, Viglietti y Skinner (1987) señalan que un elevado consumo de *snacks* durante la adolescencia puede condicionar el estatus férrico. No obstante, el consumo de todo lo que puede considerarse *snack* en la opinión más generalizada: frutos secos, refrescos, aperitivos salados y dulces, chucherías, alguna bollería, etc., no fue muy elevado si se compara con resultados de otros chicos españoles, europeos y, por supuesto, americanos (Alonso de la Torre y col., 2005; Cathro y William, 1994; Cross y col., 1994). Las 5,12 raciones semanales de *snacks* que aproximadamente tomaban los adolescentes del estudio quedan muy por debajo de los valores que señala el estudio enKid para la población infantil y juvenil, ya que por ejemplo, frente a los 6,3 refrescos semanales que consume el 93% de los chicos españoles, los de este grupo sólo tomaban 1,9 en el mismo período. Esta ingesta de *snacks* igualmente resultaba muy inferior a la señalada en la encuesta de mercado sobre hábitos alimentarios llevada a cabo en 5 países europeos: Reino Unido, Francia, Alemania, Italia y España, en la que se refleja que, como mínimo, un 80% de los encuestados consumen *snacks* diariamente, y con frecuencia varias veces al día (Cathro y William, 1994).

Desde esta perspectiva podría decirse que la conducta alimentaria de los chicos se separaba de la media, eligiendo hábitos más saludables, lo que puede entenderse si se tiene en cuenta que el nivel de instrucción de los padres influye en la calidad de la dieta (Serra Majem y col., 2002) y en nuestro caso el grado de formación paterno podía considerarse alto.

Al comparar la frecuencia de consumo de alimentos, recogida en la Tabla 12, con las directrices alimentarias señaladas en la Pirámide de Alimentación Saludable de la Sociedad Española de Nutrición Comunitaria (SENC) para la población infantil-juvenil, o con las Guías Alimentarias para el colectivo de adolescentes del “Documento de Consenso. Guías alimentarias para la población española” (Martínez de Victoria y Carazo, 1995), se observa un consumo casi adecuado de lácteos, huevos y cereales más patatas, valores algo inferiores de frutas y verduras, muy escaso consumo de pescado y leguminosas y excesiva ingesta de carne. Esto último se incluye en la tendencia general de la población española mostrada en el último medio siglo, durante el cual el consumo de carne se ha incrementado con una pendiente superior a la de otros países Mediterráneos, hasta alcanzar en la última década valores superiores a la de cualquier otro país bañado por el Mediterráneo (García-Closas y col., 2006).

Por el contrario, en lo referente al consumo de pescado, los chicos del estudio se separan abiertamente de los 120 g por persona y día que, según la FAO ingería la población española en general en el año 2001 (García-Closas y col., 2006). Esta menor ingesta podría relacionarse con la edad de los sujetos, ya que, sin alcanzarla, estaría más cerca de los 50 g de consumo diario que señala el estudio enKid para la población española infantil y juvenil (Serra Majem y col., 2002).

Aunque la dieta habitual de los adolescentes mostraba ciertas diferencias respecto a las pautas de alimentación más saludables, las desviaciones (pescado, carne) y adherencias (lácteos, cereales) se parecen a las descritas en otros estudios con adolescentes (De Rufino y col., 1999).

Para cuantificar de alguna forma el acercamiento o separación hacia los patrones dietéticos de la dieta Mediterránea, Serra Majem y col. (2004a) han definido el denominado “Test de Calidad de la Dieta Mediterránea”, que aplicado a la dieta habitual de los adolescentes del estudio, resultaba inferior a 3, lo que

indicaría su baja calidad en este contexto y la separación respecto de los saludables patrones Mediterráneos, como viene siendo bastante frecuente en los adolescentes actuales (Serra Majem y col., 2001). Por tanto, éste era el primer reto a mejorar en las dietas experimentales, haciéndolo compatible, en lo posible, con las preferencias alimentarias de los chicos.

El conjunto de alimentos consumidos componían una dieta, cuyo aporte energético quedaba ligeramente por debajo de las ingestas recomendadas para la población española de este grupo de edad (Moreiras y col., 2004), con un consumo bastante adecuado de grasas, deficiente en hidratos de carbono y excesivo en proteínas (Figura 13), tal como ocurre en la dieta de los adolescentes de países desarrollados (Martí-Henneberg y Capdevila, 2001; Elmadfa y Weichselbaum, 2005) y, en general, en la dieta Occidental. El aporte energético diario, 2017 kcal, se hallaba dentro del amplio abanico de valores descrito en chicos europeos, con un consumo similar al del Reino Unido, Bélgica o Austria, e inferior al de alemanes, italianos o daneses, entre otros (Elmadfa y Weichselbaum, 2005). Si la comparación se establece con los resultados de distintos estudios realizados en colectivos de adolescentes de diferentes regiones españolas con edades más próximas a las de nuestro grupo (Martí-Henneberg y Capdevila, 2001), su dieta habitual se hallaría entre las de más bajo contenido calórico, si bien, aportaría algo más del 80% de la ingesta energética recomendada en España para este grupo de edad. Dada la crucial importancia del aporte calórico en la adolescencia, parecía de interés tratar de elevarlo al diseñar las dietas, animándoles a consumir mayor cantidad de alimentos y, paralelamente, a realizar una actividad física adecuada.

La ingesta proteica, 80,3 g/día, aunque como se ha dicho, superaba ampliamente las recomendaciones, se inscribía entre los consumos habituales más bajos, comparada con otros colectivos españoles de la misma edad, de ahí que resultara inferior a la señalada como media para niños y adolescentes españoles de forma global, cuya ingesta proteica supone el 17% de la energía consumida (Serra Majem y col., 2004b). Por el contrario, en la dieta habitual de los chicos, esta fracción sólo alcanzaba el 15,5%, cifra similar a la de adolescentes de la misma edad de diferentes países europeos (Elmadfa y Weichselbaum, 2005) y americanos (Rockett y col., 2001). Esta contribución proteica al perfil calórico de

la dieta resultaría adecuada, ya que, dados los elevados requerimientos durante la adolescencia para el desarrollo tisular, se considera que en torno a un 15% de la energía debe ser aportado en forma de proteínas durante este estadio biológico (Hernández, 1995).

Al continuar estableciendo la comparación con otros adolescentes españoles, y refiriéndonos a lípidos y glúcidos, cabe apuntar que los primeros estarían entre las cifras inferiores señaladas en diferentes estudios por regiones y para la población adolescente española global (Serra Majem y col., 2004b), mientras que los carbohidratos se incluirían con los resultados medios. Los valores absolutos de consumo de lípidos y carbohidratos proporcionaban unos porcentajes de energía intermedios entre los descritos en diferentes países europeos. Concretamente la fracción energética debida a los hidratos de carbono era similar a la de otros países Mediterráneos (Elmadfa y Weichselbaum, 2005).

Si consideramos que una dieta saludable debe aportar entre el 30-35% de las calorías en forma de grasa y 50-55% como hidratos de carbono, puede decirse que, globalmente, el perfil calórico de la dieta que habitualmente consumían los adolescentes del estudio, sin llegar a ser el ideal, se aproximaba. Por tanto, en el diseño de las nuevas dietas podía mantenerse para respetar en lo posible sus hábitos alimentarios.

Dicho lo anterior, hay que añadir que el patrón de ácidos grasos de la dieta resultaba idóneo en ácidos grasos poliinsaturados, prácticamente adecuados los monoinsaturados si se considera el objetivo nutricional según el cual el ácido oleico debe aportar entre el 15 y el 20% de las calorías totales (Mataix Verdú y Aranceta Bartrina, 2002), y algo elevada la grasa saturada, de ahí que la relación ácidos grasos insaturados/saturados no alcanzara el valor mínimo de 2 recomendado, a pesar de utilizar el aceite de oliva como grasa culinaria. Por ello, en las dietas experimentales se trató de disminuir la grasa saturada en beneficio de la monoinsaturada, siguiendo las directrices más actuales de la dieta saludable.

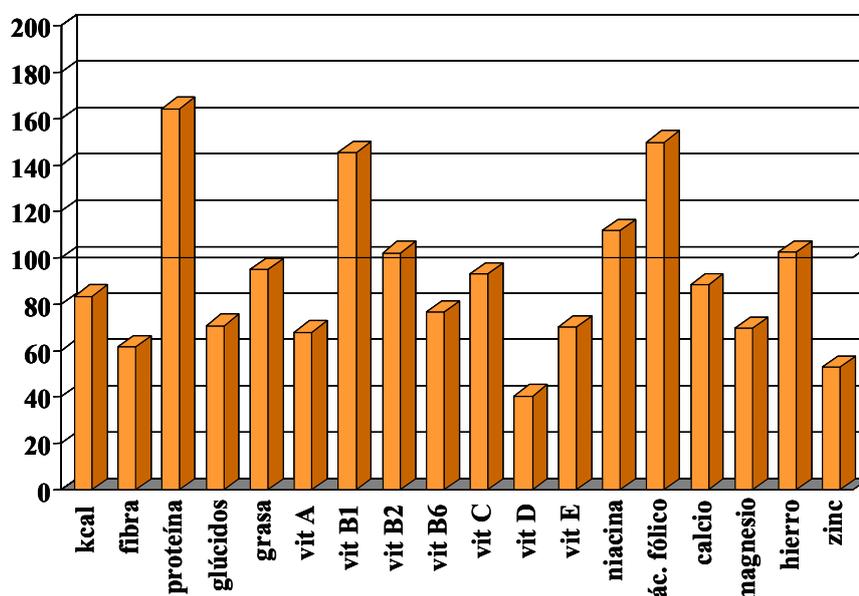
Por su parte, el contenido en fibra de la dieta habitual, aunque suponía un consumo diario equivalente a los valores medios que Serra Majem y col. (2001) describen en la población infantil y juvenil, era inferior a las recomendaciones, y, como ellos, podríamos indicar que los hábitos alimentarios actuales de los

adolescentes están haciendo que su dieta pierda alguna de las buenas características de la dieta Mediterránea, siendo en este colectivo donde las desviaciones se hacen más patentes (Serra Majem y Ngo de la Cruz, 2002).

El panorama vitamínico que presentaba la dieta del grupo correspondería al de la población infantil y juvenil española, recordando al de otros colectivos de adolescentes, si bien, respecto a los últimos, algunas vitaminas se situaban en el entorno de las cifras más bajas. Así, mientras las hidrosolubles, exceptuando la B₆, estaban más ajustadas, cabe destacar los bajos consumos de A, D y E, que no alcanzaban las ingestas recomendadas. Los déficit de las dos primeras parecen inherentes a la dieta media de la población española y concretamente la baja ingesta de vitamina D no significa necesariamente una verdadera deficiencia ni riesgo claro incluso para una población en crecimiento, dada la exposición a las radiaciones solares que conlleva vivir en esta zona geográfica, porque la síntesis epitelial permitiría llegar a satisfacer las necesidades (Valtueña y col., 2001). El consumo diario de vitamina A, aunque se encuadra entre los valores de los percentiles 75-95 de nuestra población de 2 a 24 años (Serra Majem y col., 2001), no alcanzaba las recomendaciones diarias marcadas para el período de la adolescencia. A la vista de estos resultados se comprende que en el diseño de las dietas blanca y marrón, estos micronutrientes, cuyo consumo estaba al borde o no alcanzaba las recomendaciones, se trataran de mejorar en la medida de lo posible.

La dieta satisfacía adecuadamente las ingestas recomendadas de hierro, coincidiendo con los resultados de otros estudios en adolescentes españoles (Martí-Henneberg y Capdevila, 2001), pero parecía levemente deficitaria en el aporte de calcio y magnesio. Ingestas de calcio algo insuficientes aparecen con frecuencia en este grupo de población, ya que en otros estudios realizados en adolescentes españoles se encuentran cifras de consumo de calcio semejantes (Leis y col., 1999), o incluso inferiores (Arija y col., 1996). Aparentemente resultaba defectuosa la ingesta de zinc y se dice aparentemente, porque el zinc real de la dieta superaba al valorado por el programa informático, ya que en él aparecían distintos alimentos en los que no se había considerado sus contenidos de zinc (Mesías y col., 2005).

Figura 13.- **Ingesta real de nutrientes alcanzada con la dieta habitual respecto a las ingestas recomendadas**



Los resultados de la dieta habitual mostraron, por tanto, que, si bien había factores que se podían mantener, como por ejemplo el porcentaje de energía aportada por los macronutrientes, en el diseño de las dietas experimentales había que aumentar la energía total, la fibra, los hidratos de carbono complejos, algunas vitaminas y diferentes minerales, entre los que se encontraba el calcio, pero no el hierro, cuyo aporte resultaba adecuado. Por el contrario, era conveniente disminuir la grasa saturada en beneficio de la monoinsaturada y el consumo proteico, preferentemente la proteína animal, siendo esto último muy difícil al intentar compatibilizarlo con el respeto a sus hábitos alimentarios.

1.2. Dietas experimentales: blanca y marrón

En base a las consideraciones anteriores, teniendo en cuenta el consumo diario de alimentos en adolescentes varones españoles según los estudios de Iañez (1997) y Serra Majem (2001), y tratando de satisfacer mejor las ingestas recomendadas de este colectivo, sin alterar demasiado sus hábitos alimentarios, se diseñaron las dietas experimentales. Con tal finalidad y, siguiendo las

recomendaciones diarias basadas en alimentos para adolescentes de la FAO/OMS (1996) y el Instituto Europeo de Estudios sobre Alimentación (1999), se aumentó en ellas el consumo de legumbres, patatas y pan, se incrementaron las raciones semanales de fruta y ensaladas, disminuyéndose las de carne. Se estimuló el consumo de leche y yogur y se desaconsejaron los *snacks*, las chucherías y las bebidas gaseosas. Con ello se pretendió, además, asentar unos buenos hábitos alimentarios, ya que, como se ha comentado, la adolescencia es una etapa crucial para conseguir este objetivo porque, una vez alcanzada la edad adulta, las modificaciones son muy difíciles y, en ocasiones, imposibles.

Las dietas experimentales: blanca y marrón (Tabla 6), proporcionaban más energía, mediante un mayor aporte de macronutrientes, manteniéndose de forma aproximada la distribución calórica. La proteína total no disminuía pero sí la de origen animal, mientras que la grasa monoinsaturada se incrementaba claramente. Las vitaminas y minerales se aproximaban más a las recomendaciones.

Como se ha señalado en Material y Métodos, ambas dietas tenían contenidos muy próximos de nutrientes y estaban elaboradas con los mismos alimentos cuando era posible, o alimentos equivalentes, diferenciándose en aquéllos cuyo normal proceso de fabricación implica el desarrollo de la reacción de Maillard, como la corteza del pan o el chocolate, que fueron excluidos de la dieta blanca.

Ya que nuestro propósito era obtener dos dietas con alto y bajo contenido de PRM, la gran diferencia entre ellas fue la técnica culinaria empleada en la preparación de los alimentos: cocción, estofado, horneado con protección, etc., en la blanca y fritura, asado a la plancha, tostado, etc., en la marrón. Hay que resaltar que, como queda reflejado en las encuestas alimentarias para conocer la dieta habitual de los chicos, los últimos procesos enumerados fueron los métodos culinarios más frecuentes en la preparación de los platos de la dieta que habitualmente consumían los adolescentes, y de ahí su mayor cercanía con la dieta marrón. Las pautas seguidas para el diseño dietético dieron resultados y efectivamente se consiguieron dos dietas diferentes en sus contenidos en PRM (Tabla 10).

1.3. Indicadores de la reacción de Maillard

Se midieron indicadores tempranos, medios y avanzados de la reacción de Maillard y, como puede apreciarse en la Tabla 10, el contenido de furosina fue muy próximo entre ambas dietas. Este resultado, sorprendentemente en principio, se comprende al considerar que los PRM, especialmente los tempranos, son consustanciales a nuestra dieta y los consumimos diariamente, ya que su formación está ligada a muchos tratamientos culinarios y de conservación de los alimentos, como indica Vlassara (2000); posiblemente por esto, añade que en los últimos 50 años el contenido de AGE en la dieta Occidental se ha incrementado considerablemente, en función de las tendencias actuales de consumo.

De una parte, la dieta blanca contenía alimentos procesados: leche, zumos, batidos, mermeladas, natillas, etc., en los que aisladamente se han descrito cantidades de furosina, hidroximetilfurfural (HMF), etc. Por ejemplo, en leches comerciales españolas, Morales y col. (1996) muestran pérdidas de disponibilidad de la lisina, indicadoras del desarrollo de la reacción, que oscilan entre 0,4-5,8% en virtud del tratamiento empleado para su higienización. Igualmente señalan la presencia de HMF en la leche pasteurizada, que incrementa paralelamente al tratamiento UHT y a la esterilización, en cuyas muestras alcanza los valores más altos. Asimismo, el contenido de furosina en leches UHT españolas de mercado varía entre 89-155 mg/100 g de proteína (Corzo y col., 1994). De ahí que este alimento, por ejemplo, aportara cantidades de los productos de Maillard a ambas dietas, incluida la blanca, sobre todo en los desayunos y meriendas (Delgado-Andrade y col., 2007).

Algo parecido podríamos decir relativo a los zumos (Koschinsky y col., 1997), al pan, bizcochos (Erbersdobler y Faist, 2001), mermeladas (Rada-Mendoza y col., 2004), etc., en los que se han descrito cantidades de diversos indicadores. Además, los alimentos de la dieta blanca se habían cocinado, aunque ciertamente por procedimientos más suaves que los de la dieta marrón, y esto contribuiría también a incrementar los PRM, incluso los más avanzados (Zheng y col., 2002).

No obstante, las diferencias entre ambas dietas se acentúan al observar los indicadores de productos más avanzados de la reacción de Maillard:

hidroximetilfurfural, carboximetilisina (CML) o fluorescencia, cuyos contenidos fueron netamente superiores en la dieta marrón. A este respecto se sabe que, junto con el contenido en nutrientes de los alimentos, el tratamiento empleado en la preparación culinaria es determinante (Koschinsky y col., 1997) y que con mayor severidad tiempo-temperatura, la reacción de Maillard se intensifica y progresa la aparición de productos más complejos y pardeados (Ferrer y col., 2000; Delgado-Andrade y col., 2004).

En este sentido, los procesos de cocción en agua o al vapor, escalfado, estofado, etc., se consideran generadores de dietas con bajas concentraciones de AGE, mientras que fritura, asado, asado a la parrilla y recalentamiento, dan lugar a preparaciones culinarias ricas en AGE (Uribarri y col., 2003). Como puede verse, ésa justamente fue la separación de técnicas empleadas para elaborar las dietas blanca y marrón, respectivamente, por lo que se comprende la mayor abundancia de PRM avanzados en la última.

Además, la reacción de Maillard es una reacción en cadena, de forma que los productos más complejos se van formando por reacciones diversas de los iniciales, por ejemplo, el HMF se origina fundamentalmente mediante la 1,2 enolización de los compuestos de Amadori bajo condiciones ácidas (Ait Ameer y col., 2004). A su vez, uno de los orígenes de la CML está en las bases de Schiff (Thorpe y Baynes, 2002) y en general los compuestos más avanzados que producen fluorescencia, tienen su origen en compuestos iniciales más sencillos. Todo ello explicaría la disminución de furosina en la dieta marrón y el paralelo incremento de HMF y de los restantes indicadores.

Por último, en la dieta marrón se incluyeron productos, en cuya preparación el desarrollo de la reacción es imprescindible: corteza de pan, cereales de desayuno, chocolate, etc. Altos contenidos de HMF se han descrito en la corteza del pan (Ramírez-Jiménez y col., 2000) y en cereales de desayuno (Rufián-Henares 2006). A su vez, pirralina, pentosidina y otros PRM, son abundantes en el chocolate (Oak y col., 2002; Föster y col., 2004).

De manera que por esas distintas vías se haría posible el mayor contenido de PRM en la dieta marrón respecto de la blanca, que era el objetivo buscado para el diseño de las experimentales.

No se dispone en la bibliografía de datos cuantitativos concretos de distintos PRM en otras dietas con las que poder establecer una comparación. Sólo se ha encontrado la estimación que realiza Henle (2003) según la cual “las dietas convencionales aportan entre 500 y 1200 mg de productos de Amadori y entre 25 y 75 mg de AGEs, representados principalmente por pirralina y CML”. No sabemos si se trata de un aporte diario, semanal, etc., o si es una concentración en la dieta, y de ser así, si está referida a sustancia seca o fresca. Si la estimación se refiere a aporte diario, se trataría de cantidades de compuestos tempranos de tres a cinco veces superiores, mientras que la CML de la dieta marrón se hallaría en torno a la mitad del límite inferior que establece.

No obstante, hay que tener presente que la dieta marrón era una dieta rica en PRM, pero equilibrada y apropiada para adolescentes, cuyo contenido en estos productos se habría incrementado, sin duda, si se hubiera inclinado hacia un consumo sesgado de comidas rápidas, *snacks*, etc., tal como indica Koschinsky (1997).

1.4. Consumo de las dietas blanca y marrón. Ingesta de nutrientes.

Tras la toma de ambas dietas los adolescentes redujeron el consumo de carnes, sobre todo en la etapa marrón, e incrementaron el de pescado (Tabla 12). La ingesta láctea se mantuvo, elevándose la de cereales; especial importancia tuvieron el pan y la pasta en la dieta blanca y, además del pan, los cereales de desayuno, bollería y galletas en la marrón. Por último, se elevaron las leguminosas, frutas y verduras.

Estos cambios determinaron un aumento sustancial del Test de calidad de las dietas respecto al patrón Mediterráneo, que pasó del valor de 1, ya comentado en la dieta habitual, a 6 en la dieta blanca y 7 en la marrón, indicando su mayor grado de acercamiento a los patrones de la dieta Mediterránea y, por tanto su mayor calidad, ya que se acercarían mucho al valor mayor igual a 8 que, en opinión de Serra-Majem y col. (2004a), se considera como óptimo.

El consumo de esas dietas diseñadas dio lugar a una ingesta de energía y nutrientes que se recoge en las Tablas 13-15 y que, aunque se aproximan, no coinciden exactamente con las ingestas teóricamente programadas. La razón

reside en que, aunque el grado de adhesión a la dieta de los sujetos puede considerarse aceptable, o incluso bueno, algunos platos no se los comieron o no lo hicieron totalmente, seleccionando a veces las partes que más les gustaban, de ahí que en términos generales la dieta marrón, más similar a la suya, tuviera mayor grado de aceptación. Además, en casos excepcionales sustituyeron algún plato poco apetecible por alimentos permitidos en el período.

Fruto de lo anterior fue que el consumo energético, aunque se elevó en ambas dietas, sólo alcanzó diferencias significativas respecto de la habitual con la dieta marrón. En ella abundaban los alimentos fritos: patatas, pollo y otros; bollería, chocolate, cacao, etc., ricos en grasa, muy energéticos y muy del gusto de los adolescentes, que no se los dejaron nunca, de ahí el mayor consumo de energía, propiciado especialmente por la grasa.

Ya que el aceite de oliva fue siempre la grasa culinaria empleada en la preparación de los alimentos, se comprende que, respecto a la dieta habitual, se elevara el contenido de monoinsaturados y disminuyera la relación ácidos grasos poliinsaturados/monoinsaturados en ambas dietas, pero sobre todo en la marrón, a causa de la abundancia de fritos. El proceso de fritura entraña una penetración de la grasa del baño (aceite de oliva en nuestro caso) en el alimento (Sánchez-Muniz y col., 1992) y ello supuso un incremento extra de monoinsaturados.

Por su parte se mejoró la relación grasa insaturada/saturada, superando en ambas dietas el mínimo de 2 recomendado, debido en parte a la ingesta de pescado, que, además, aumentaba la calidad de la grasa, por su riqueza en w-3. La ingesta proteica se mantuvo en los valores de la dieta habitual, pero, dados los cambios experimentados por la grasa, el porcentaje de energía aportado por la proteína no se modificó en la dieta blanca, disminuyendo en la marrón.

Por lo que se refiere a los micronutrientes, en general los deficitarios se aproximaron mejor a las recomendaciones: vitamina A, C, E, B₆, Ca, Mg, etc. Efectivamente, según el cálculo informático, entre ambas dietas aparecieron algunas diferencias significativas en la ingesta de ciertos micronutrientes, que cuantitativamente carecían de importancia, B₆ por ejemplo, o que incluso desaparecieron tras el análisis de las dietas, caso del calcio.

El contenido de sodio se redujo, significativamente en la dieta blanca, ya que en ella era menor la presencia de precocinados, tipo croquetas, palitos de pescado, etc., que se comercializan con la sal añadida.

La ingesta de potasio se elevó en la intervención nutricional, sobre todo con la dieta blanca, ya que en ambos períodos experimentales se estimuló, como ha quedado manifiesto, el consumo de leguminosas, frutas y verduras, ricas en el micronutriente, las cuales también incrementaron el aporte de magnesio respecto a su dieta habitual.

2. CALCIO

2.1. Contribución de los distintos grupos de alimentos al aporte diario de calcio en la dieta

Como viene siendo habitual, las carnes, huevos y pescados fueron fuentes minoritarias de calcio en la dieta (Figura 14). La concentración de calcio en las dos primeras es baja, y aunque el pescado, sobre todo los peces pequeños consumidos con espinas, constituye un mejor aporte, dado el bajo consumo en la dieta habitual y el no demasiado alto en las experimentales, no supuso una contribución importante al calcio dietético en ninguna de las tres dietas. No obstante, existió una correlación positiva entre el consumo de pescado e ingesta cálcica cuando se agrupaban los valores correspondientes a las 3 dietas, lo que denominaremos global (Tabla 29).

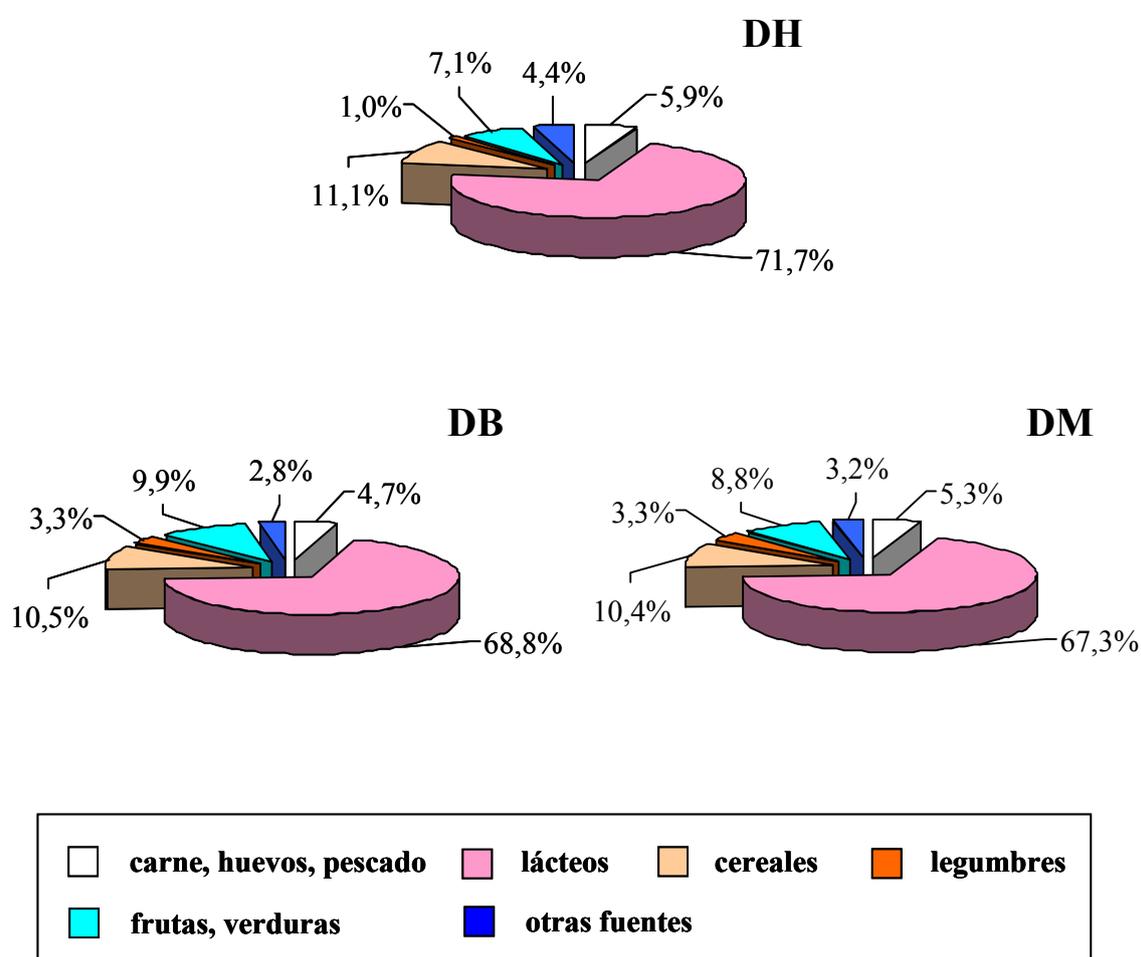
Las legumbres se consideran alimentos ricos en calcio, pero su pequeño consumo en la dieta habitual, 0,1 raciones/día, no les permitió proporcionar gran cantidad del elemento a la ración diaria, sólo el 1%, porcentaje que se elevó significativamente en las experimentales.

Las frutas y verduras aportaron entre el 7 y el 10% en las tres dietas, mientras que los cereales y sobre todo los lácteos, fueron los grupos de alimentos fundamentales para cubrir la ingesta diaria de calcio. Así, el calcio ingerido se incrementó paralelamente al consumo de leche y derivados, en el conjunto de las dietas o, aisladamente en cada una (Tabla 29). En los cereales apareció la correlación global y en la dietas habitual y marrón. Aunque las raciones/día de los cereales consumidos en las dietas experimentales fueron equivalentes y superiores a las de la habitual, el aporte de calcio a partir de estas fuentes se incrementó en ambas dietas experimentales, aunque las diferencias sólo resultaron significativas en la blanca.

Los productos lácteos, como es típico en los países occidentales, constituyeron el aporte mayoritario del micronutriente en las tres dietas, con diferencia respecto a cualquier otro grupo de alimentos, proporcionando en torno al 70% del calcio ingerido. Entre los lácteos, la leche representaba la fuente principal en la ingesta cálcica, proporcionando en las tres dietas entre el 37 y el 43% de la misma. Porcentajes muy próximos al 39,4% que señala el estudio

enKid para los varones españoles entre 10 y 13 años (Román Viñas y col., 2004) y algo inferiores al 45% descrito en chicos americanos (Nicklas, 2003), lo que supone que en nuestros adolescentes más de un 54% del calcio lácteo procedía de leche líquida (Figura 15), seguida por el queso y otros lácteos, en los que se incluyen batidos y postres lácteos que fueron ampliamente consumidos en las dietas experimentales.

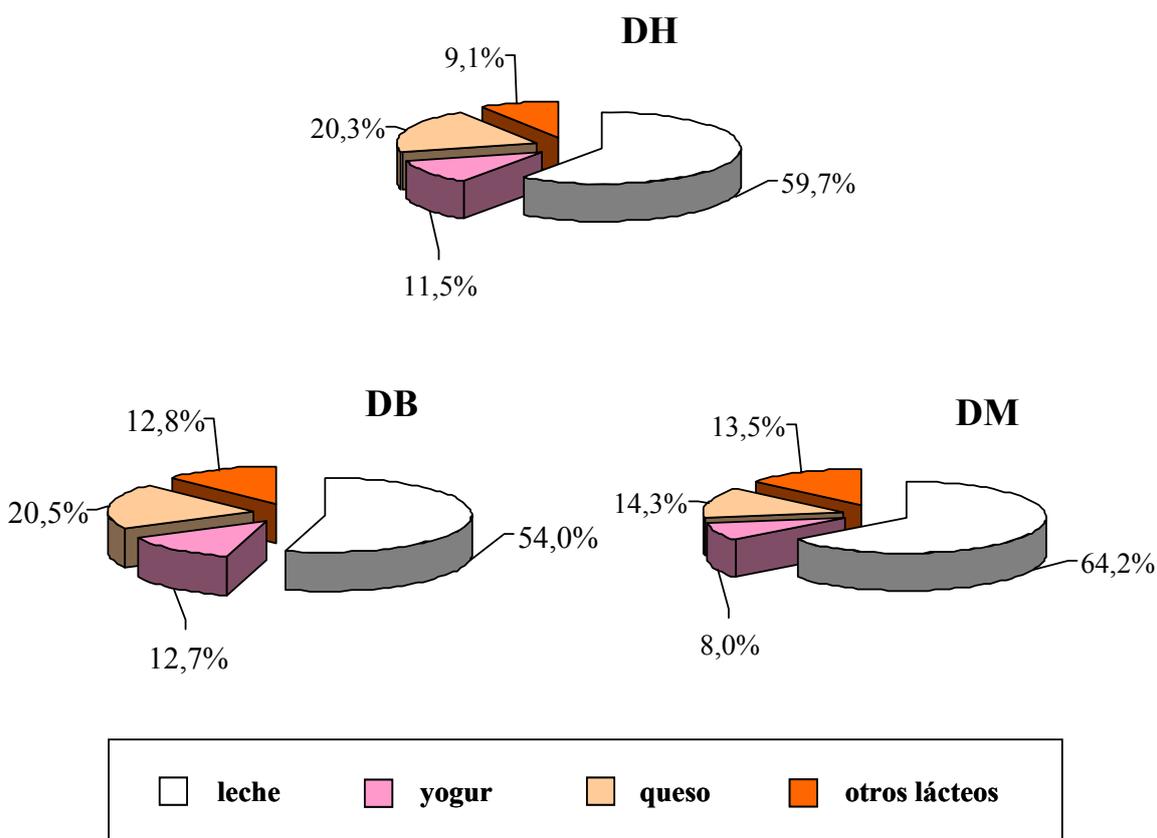
Figura 14.- **Distribución porcentual de la ingesta de calcio entre los distintos alimentos**



Aisladamente el queso contribuyó a la ingesta cálcica en una proporción similar o incluso superior a los cereales, lo que se asemeja al patrón descrito por Nicklas (2003) en chicos americanos y se separa de los resultados globales del

estudio enKid en chicos españoles (Román Viñas y col., 2004). En éste último los cereales aportaban algo más de calcio y algo menos el queso comparado con las dietas habitual y blanca, en las que los chicos tendieron a consumir mayores cantidades de este producto lácteo.

Figura 15.- **Distribución porcentual de la ingesta de calcio entre los productos lácteos**



Se ha dicho que en los adolescentes el consumo de bebidas refrescantes puede desplazar a la leche y con ello disminuir la ingesta cálcica (Story y Stang, 2005; Vatanparast y col., 2006), pero los del estudio se alejarían algo de ese patrón, ya que el calcio aportado por la leche, como ha quedado patente, se hallaba entre las cifras más altas consumidas por la población española de 2 a 24 años (Román Viñas y col., 2004), y a ello hay que añadir que existió además una importante fuente adicional de calcio en forma de batidos.

El perfil de la distribución del calcio dietético entre los distintos grupos de alimentos recuerda al de la población española en su conjunto (Varela y col., 1995), si bien las proporciones aportadas por lácteos y cereales serían algo superiores en nuestro caso y, más pequeñas, las procedentes del grupo de carnes, pescados y huevos o las de frutas y verduras. En la dieta habitual de los chicos, las leguminosas contribuían con un porcentaje de calcio inferior al de la dieta de la población española que, por el contrario, se superaba levemente en las dietas blanca y marrón, dado nuestro interés por aumentar la ingesta de estos alimentos.

Si la comparación se establece con la estimación realizada por Jodral-Segado y col. (2003), teniendo en cuenta el consumo de alimentos en adultos de Andalucía Oriental, las desviaciones son más marcadas, debido fundamentalmente a que en este trabajo los lácteos sólo proporcionan un 45% de la ingesta de calcio, con lo que se incrementan las fracciones de los restantes grupos de alimentos.

Respecto a otros estudios realizados en adolescentes españoles (Román Viñas y col., 2004) o alemanes (Kersting y col., 2001), los chicos de este ensayo consumieron mayor proporción de calcio a partir de productos lácteos, y menor a base de otras fuentes, lo que de nuevo pone de manifiesto el considerable consumo de lácteos y con ello la idea de que, en principio, la disponibilidad del calcio dietético debía ser bastante buena. Existe un acuerdo generalizado de que la disponibilidad potencial del calcio lácteo es alta, ya que puede absorberse en torno al 40% del ingerido en condiciones dietéticas normales, debido a la forma del elemento en la leche, a la presencia en la misma de potenciadores de su absorción como lactosa y caseinfosfopéptidos que, además, dificultan el efecto de algunos inhibidores de su absorción (Guéguen y Pointillart, 2000; Erba y col., 2001).

2.2. Balance de calcio

a) Ingesta

En primer lugar conviene aclarar la discrepancia existente entre los valores de ingesta de calcio que aparecen en las Tablas 15 y 21. Los de la primera son datos calculados mediante el programa informático; los de las dietas blanca y marrón

de la Tabla 21 son los obtenidos mediante el análisis directo de las dietas consumidas durante la intervención nutricional. Para realizar los balances se analizó el contenido de calcio en las heces y orinas tras el consumo de las dietas habitual, blanca y marrón, utilizándose los datos de ingesta cálcica diaria obtenidos por vía analítica en las dietas experimentales. Dado que la ingesta de calcio resultante de la vía analítica superaba a la calculada informáticamente (Mesías y col., 2005) y, teniendo en cuenta que era imposible de analizar la dieta habitual, se decidió aumentar el valor del calcio ingerido en esta última en una proporción igual a la media de los incrementos observados entre la vía analítica e informática en las dietas experimentales.

La dieta habitual de los adolescentes del ensayo propiciaba como valor medio una ingesta diaria de calcio similar a la media del conjunto de la población española y ligeramente por encima de los valores de la población andaluza agrupada y no referida a un colectivo en período de intenso crecimiento como el de nuestro estudio (Varela y col., 1995). Respecto a la población infantil y juvenil, los 875 mg Ca/día (Tabla 13) resultan inferiores a los 984,5 mg/día obtenidos para la población española de 2 a 24 años y más aún que los 1010 mg/día que parecen consumir los chicos de 10 a 13 años de nuestro país (Serra-Majem y col., 2006a), lo que en principio apunta a un consumo algo escaso. No obstante, comparado con otros estudios realizados en adolescentes de diversas regiones españolas, las cifras de consumo cálcico de nuestros adolescentes parecen intermedias, inferiores a las obtenidas en chicos de Madrid y Galicia (Estudio CAENPE, 1994; Leis y col., 1999), del orden de las de catalanes (Department de Sanitat i Seguretat Social, 1996) y superiores a las de otros estudios realizados en Reus (Arija y col., 1996) y Cádiz (Failde y col., 1997), por ejemplo.

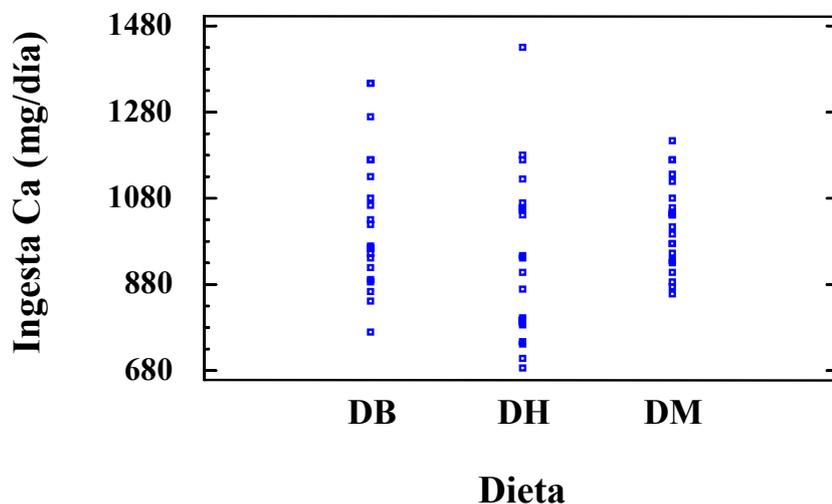
Esta situación intermedia se repite al considerar los datos del ámbito internacional, alineándose con la ingesta cálcica de adolescentes italianos y austriacos, entre otros, mientras que griegos, nórdicos y americanos tendrían consumos superiores (Bethene Ervin y col., 2004; Elmadfa y Weichselbaum, 2005).

Debe quedar claro que no se ha pretendido realizar un estudio epidemiológico, ni generalizar a una población más amplia, sino que todas estas comparaciones se establecen para aproximarnos al estatus nutricional, referido al calcio, de los chicos del ensayo. Dicho esto, cabe añadir que a pesar de esa situación intermedia en la ingesta cálcica, comparada con las de otros grupos de adolescentes, el consumo diario del nutriente no alcanzaba plenamente las recomendaciones españolas para este grupo de edad (1000 mg/día).

La dispersión en el consumo de calcio fue amplia entre los participantes mientras tomaban su dieta habitual (Figura 16), oscilando entre valores de 684 mg/día y, excepcionalmente, más del doble, de ahí que el percentil 25 se mantuviera por debajo, aunque muy próximo, al 80% de las ingestas recomendadas en España para esta edad, mientras que el percentil 75 las superaba. Claramente más del 50% de los chicos no alcanzaban las ingestas cálcicas ordenadas y mucho menos llegaban a cubrir los incrementos recientes establecidos para este período (1300 mg/día) (Dietary Reference Intake, 2001). Por tanto, estos resultados estarían en línea con todos los que señalan el consumo frecuente por parte de los adolescentes de dietas tal vez insuficientes para satisfacer de forma óptima las necesidades de calcio durante el estirón puberal (Bowman, 2002; Elmadfa y Weichselbaum, 2005). Así, en las dietas experimentales, sin modificar en gran medida los hábitos alimentarios, se trató de cuidar la ingesta cálcica, si bien los incrementos en el calcio diario ingerido, iguales en las dietas blanca y marrón, fueron tras su análisis de escasa cuantía, por lo que no llegaron a alcanzar diferencias significativas respecto de la dieta habitual.

Aunque en los períodos experimentales la dispersión de la ingesta disminuyó, resultó mayor en la dieta blanca que en la marrón. En ambos casos el percentil 25 del consumo diario de calcio ya superaba el 90% de las ingestas recomendadas y solamente un chico, consumiendo la dieta blanca, tuvo una ingesta cálcica inferior al 80% de las ingestas recomendadas, siendo, al menos, un 50% de ellos los que las satisfacían plenamente, de forma que el percentil 50 coincidía con el obtenido en el estudio enkid para chicos españoles de la misma edad (Serra-Majem y Aranceta Bartrina, 2004).

Figura 16.- **Dispersión de la ingesta de calcio en las distintas dietas**



b) Utilización digestiva

b.1. Excreción fecal

Las concentraciones de calcio en las heces de los chicos consumiendo las dietas experimentales no varió respecto a la que se produjo con la dieta habitual, intermedia entre los valores más altos de la blanca y los menores de la marrón (Tabla 22). La diferencia entre ambas dietas experimentales puede relacionarse con una menor masa fecal de los sujetos cuando tomaron la dieta blanca, en la que el peso de las heces frescas, a pesar de su algo mayor consumo de frutas y verduras, fue inferior al producido bajo el consumo de la dieta marrón. El incremento de la masa fecal en los sujetos consumiendo la dieta rica en productos pardos podría ser dependiente de un mayor contenido hídrico, descrito en ensayos de animales alimentados con dietas enriquecidas en PRM (O'Brien y Walker, 1988), atribuido a la alta osmolaridad de estos productos (Oste y col., 1983) y también a la menor digestibilidad que ocasionan en algunos macronutrientes, lo que de forma indirecta aumentaría su excreción fecal y, con ello, el peso de las heces. Efectivamente, aunque la digestibilidad de los carbohidratos no se ha calculado, en estos chicos sí observamos una disminución de la digestibilidad

proteica en los períodos en que consumieron la dieta marrón (Seiquer y col., 2006b). Quizá por ello el mayor peso de las heces, 109,8 g/día, correspondiera a la dieta marrón y el menor, 86,7 g/día, a la blanca, mientras que con la habitual, que participaba de las características de ambas dietas, resultaba intermedio, 94 g/día.

Todo lo anterior se ha indicado porque la eliminación fecal de calcio diaria no varió entre los grupos experimentales ni tampoco significativamente respecto al calcio excretado por los sujetos con su dieta habitual. Si bien en este caso pareció observarse una tendencia a incrementar el calcio en heces con valores algo superiores en los percentiles más altos. En términos generales el calcio excretado diariamente por los chicos, 64,2%, 53,3% y 56,7% del ingerido con las dietas habitual, blanca y marrón respectivamente, resultó inferior al que Guéguen y Pointillart (2000) señalan en su esquema para la población adulta, incluso también menor a la fracción de calcio excretado en adultos jóvenes (Pannemans y col., 1997). Sin embargo, fue similar a la excreción de chicos y chicas adolescentes con ingestas cálcicas parecidas (Matkovic, 1991; Wastney col., 2000); lo que parece lógico, porque como indican Weaver y col. (1995), los adolescentes tienen más baja excreción fecal para permitir el incremento de absorción que se produce en respuesta a las mayores necesidades de calcio en esta etapa de acelerado crecimiento, superiores a las de cualquier otro período de la vida, ya que la absorción es un factor clave para condicionar la retención del calcio (Weaver, 1994).

b.2. Absorción y digestibilidad

Los cambios físicos y hormonales que se producen son determinantes de la utilización del calcio, de forma que su absorción se incrementa claramente en los chicos durante los estadios II-IV de Tanner, respecto a períodos anteriores, observándose una estrecha correlación entre la ingesta y la absorción del mineral (Abrams y col., 1997), que también se manifestó en los chicos del estudio considerados en su conjunto (Tabla 29).

Sin embargo, no se trata sólo de un aumento en valor absoluto del calcio absorbido, sino que además se favorece la eficacia del proceso, incrementándose la fracción de calcio absorbido del ingerido o digestibilidad (Peacock, 1991).

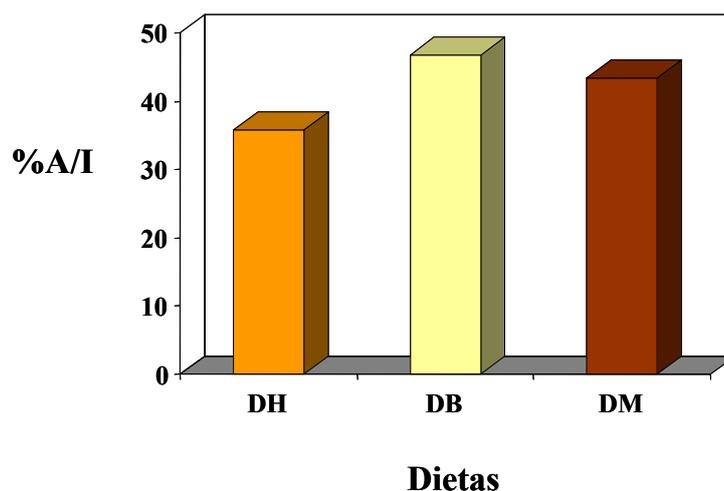
Las cifras de absorción de calcio en los ensayos oscilaron entre los 331 g con la dieta habitual y los 481 y 436 g con la blanca y la marrón respectivamente, de forma que aún sin diferencias significativas, en ambos casos se observaron incrementos cercanos al 45 y 31%, respectivamente, comparadas con los 331 g de calcio absorbidos con la dieta habitual. Esta cifra, similar a las descritas en otros estudios con chicos de 9 a 14 años (Abrams y col., 1997) o de 9 a 17 (Matkovic, 1991), sería suficiente para permitir la acreción cálcica durante la preadolescencia, pero seguramente algo escasa para las mayores tasas del período puberal (NIH Consensus Conference, 1994), que sí podrían cubrirse con los valores de absorción alcanzados con las dietas experimentales. A este respecto, puede indicarse que la edad media de los chicos al comienzo del estudio se aproximaba a los 12,9 años, y casi la mitad de ellos se hallaban en un estadio de Tanner inferior a III, por lo que puede entenderse que aún sus necesidades de calcio no eran las máximas para el estirón puberal. Así sólo el 50% de los sujetos se acercó o superó los 400 mg/día, apropiados para esta etapa.

Como se ha dicho, bajo el consumo de las dos dietas experimentales tendió a incrementarse el calcio absorbido y su eficacia, pero sin alcanzar diferencias significativas respecto del transferido al organismo con la dieta que habitualmente tomaban (Figura 15). No obstante, si se agrupan los resultados de ambas dietas, el valor medio del calcio absorbido sí adquiere ya significación estadística respecto al de la dieta habitual (Seiquer y col., 2007), indicando que las dietas diseñadas parecen más positivas para la digestibilidad del mineral.

La mejor utilización digestiva del calcio durante la intervención nutricional puede entenderse al considerar que en una situación fisiológica especialmente sensible por el intenso crecimiento, se suministran a los chicos dos dietas, blanca y marrón, más equilibradas, con una ingesta energética mejor ajustada, con mayor consumo de frutas y verduras, con una relación de ácidos grasos más idónea, en la que el origen de la proteína es más variado y en las que tiende a elevarse el calcio ingerido, de ahí que su absorción se favorezca y ya el valor del percentil 25

con la dieta blanca se aproximaba a los 400 mg/día y en la marrón a los 300 mg/día frente al más bajo valor en la dieta habitual.

Figura 17.- **Digestibilidad del calcio tras el consumo de las distintas dietas**



A este respecto se sabe que la acreción ósea depende en gran medida del estatus nutritivo (Ndiaye y col., 1995; Branca y col., 2002), por lo que parece obvio que unas dietas más equilibradas y mejor ajustadas a las necesidades de los sujetos supondrán un estímulo para el crecimiento y con él, un aumento de las necesidades de calcio y, consecuentemente, de su absorción.

Estudios recientes han mostrado que los fructooligosacáridos mejoran la absorción de calcio en adultos (Hollaway y col., 2003) y adolescentes (Van Den Heuvel y col., 1999), a través de su fermentación colónica que induce una acidificación favorecedora de la solubilidad y, con ella, de la absorción cálcica (Abrams y col., 2005). Tal vez también porque los ácidos grasos de cadena corta, producidos durante la fermentación, estimularían el proceso mediante intercambio de H^+ intracelulares por Ca^{2+} del colon (Trinidad y col., 1996). Puede pensarse que el mayor consumo de cereales, frutas y verduras en las dietas experimentales haya incrementado la presencia de estos prebióticos en el digestivo de los chicos y contribuido a mejorar la absorción del calcio en un

momento fisiológico de grandes necesidades. No obstante, los vegetales aportan también sustancias negativas para la disponibilidad del nutriente, como fitatos, oxalatos, etc., que habrían de considerarse factores depresores. A pesar de esto, conviene añadir que gran parte del calcio era de procedencia láctea y, como ya se ha dicho, muy disponible, y en gran medida protegido de factores negativos de su absorción (Guéguen y Pointillart, 2000).

Otro alimento, aumentado también en las dietas experimentales, el pescado, proporciona un calcio muy disponible (Hansen y col., 1998) y puede favorecer la absorción del total presente en la dieta, ya que, por una parte, su proteína es tan positiva como la caseína para la absorción del mineral (García-Arias y col., 1994) y, por otra, porque su grasa w-3 podría estimular el transporte mediante diversas acciones:

- La incorporación de docosahexanoico en los fosfolípidos de membrana es susceptible de afectar la estructura de la bicapa lipídica y hacerla más permeable al Ca^{2+} (Croset y col., 1989).
- La acción del $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, elevando la concentración de ácidos grasos poliinsaturados del borde en cepillo del enterocito y con ello la fluidez de la membrana, favorece así la entrada de calcio (Gilmore y col., 1979).
- Por estimulación, sobre todo debida al ácido docosahexaenoico, de la ATPasa intestinal que potenciaría el transporte de calcio en la membrana basolateral (Haag y col., 2003).

Al segundo mecanismo señalado podría también contribuir el aumento de la relación ácidos grasos insaturados/saturados que tenían las dietas experimentales. Por último hay que añadir que el efecto positivo de la grasa del pescado en la utilización digestiva del calcio, se potencia cuando se consume junto con el aceite de oliva (Pérez-Granados y col., 2000) tal como ocurre al ingerir pescado frito, condición que también cumplían las dietas blanca y marrón.

La ingesta de vitamina D se incrementó en las dietas diseñadas, pero este cambio, que en principio podría ser positivo, seguramente no tuvo gran efecto, ya que la insolación de la zona parece suficiente para, a través de la síntesis epitelial, completar las necesidades del micronutriente (Valtueña y col., 2001).

Por último, hay que apuntar que, aún sin diferencias significativas, en la intervención nutricional las ingestas de calcio y fósforo se incrementaron y así ambos elementos siguieron manteniendo la proporción que permite una más adecuada absorción de calcio (Anderson y Garner, 1996), relación que ya existía en la dieta habitual.

A la vista de tantos condicionantes positivos para la disponibilidad del elemento, cabría esperar incluso un efecto mucho más significativo sobre su absorción, que no se ha producido. No debe extrañar, ya que no puede olvidarse que el principal condicionante de la absorción son las necesidades corporales, determinadas en esta etapa por la velocidad de crecimiento (Guéguen y Pointillart, 2000) y, como indicamos, sólo la mitad de los chicos se hallaban ya en los estadios de Tanner más propicios para ello, por lo que, dadas las diferencias entre los sujetos y su número limitado, los efectos no se manifestaron tan claramente.

b.3. Influencia del consumo de dietas ricas en productos pardos

Diversos estudios sugieren que los PRM pueden fijar metales al comportarse como polímeros aniónicos capaces de quelarlos (Rendleman, 1987), lo que de alguna forma podría afectar su solubilidad y disponibilidad.

Los PRM más sencillos y solubles los mantendrían en solución, mientras que los productos más avanzados, de mayor peso molecular e insolubles contribuirían a su insolubilización (Navarro, 2003). El grado de afinidad por los distintos elementos metálicos varía, y el calcio no parece encontrarse entre los más afines (O'Brien y Morrisey, 1997).

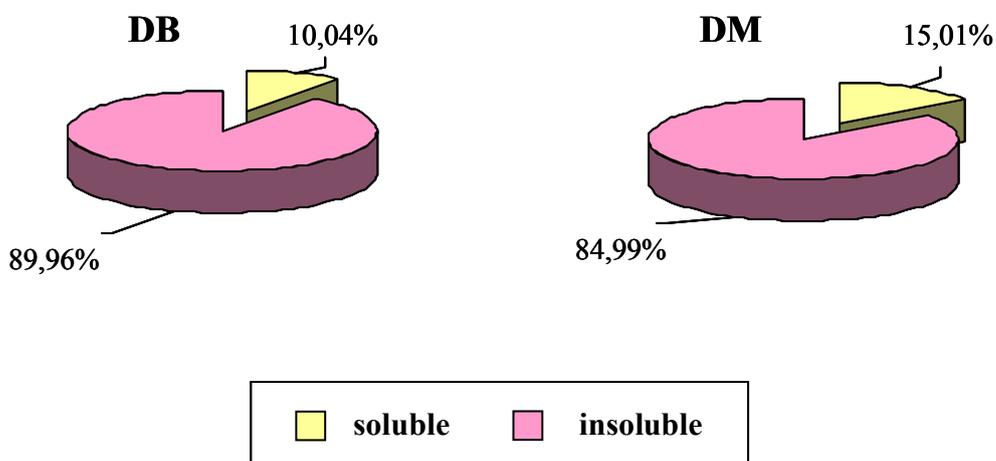
No obstante, de acuerdo con Rendleman (1987), el calcio puede unirse a melanoidinas insolubles, estando la fructosa-glicina entre las de mayor afinidad, pero también a melanoidinas solubles, algunas de las cuales resultan más reactivas que las insolubles.

Trabajos anteriores del grupo demuestran que la presencia de PRM, obtenidos en sistemas modelo glucosa-lisina y glucosa-metionina calentados, en soluciones de diversos minerales al pH y osmolaridad propios del digestivo prácticamente no modifica la solubilidad del calcio, que casi en su totalidad permanece soluble, con

una levísima fracción insoluble (Delgado-Andrade y col., 2005c). Esta tónica de escaso efecto de los PRM en la solubilidad del calcio, se manifiesta también tras la digestión in vitro de distintas dietas de animales cuya proteína, caseína, se había calentado en presencia de glucosa, observándose sólo un mínimo incremento de la fracción de calcio insoluble.

En los resultados de la digestión in vitro de las dietas experimentales que consumieron los chicos, se puso de manifiesto una vez más la ausencia de variaciones debidas a la presencia de productos pardos (Tabla 42). Los porcentajes de calcio soluble e insoluble no variaron entre ambas dietas, lo que sería un primer indicativo del mantenimiento de su disponibilidad (Figura 18). A esto podría añadirse que en los ensayos con células Caco-2, el porcentaje de transporte de calcio fue idéntico con ambas dietas (Figura 19), de forma que de nuevo se apuntaría la ausencia de efectos negativos de los PRM existentes sobre la utilización del calcio, reflejada en la similitud de la disponibilidad (Tabla 44).

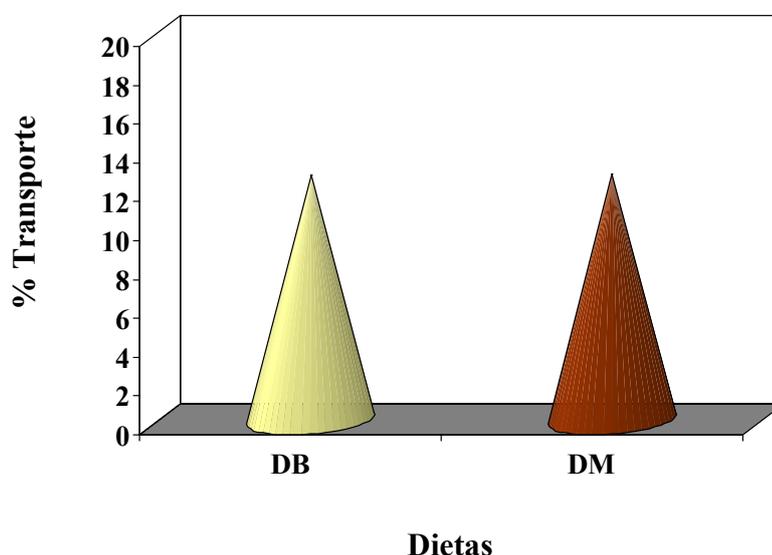
Figura 18.- Distribución del calcio de la dieta tras la digestión in vitro



Tampoco la adición de PRM procedentes de glucosa-lisina y glucosa-metionina al medio de cultivo deprimió la fracción de calcio transportado a las células (Delgado-Andrade y col., 2005b), que incluso se favoreció por la presencia en la dieta de caseína calentada (Seiquer y col., 2001a).

En concordancia con la ausencia de variaciones en la eficacia con que podía utilizarse el calcio, demostrada en los ensayos in vitro, la excreción fecal diaria del micronutriente no varió entre los chicos en función de que consumieran la dieta blanca o marrón (Tabla 22). Esto, unido a la similitud de las ingestas, determinó absorciones del elemento no diferentes significativamente entre ambas dietas, si bien los valores en los distintos percentiles fueron siempre mayores con la dieta blanca (Tabla 23).

Figura 19.- Transporte del calcio soluble de las dietas en células Caco-2*



* Los resultados se refieren a los obtenidos para la superficie del pocillo (4,7 cm²)

No se han encontrado datos en la bibliografía referentes a los efectos de los PRM en la digestibilidad del calcio en humanos. Ensayos en ratas utilizando PRM procedentes del calentamiento de distintos sistemas modelo aminoácido-azúcar (Delgado-Andrade y col., 2006) o con alimentos infantiles (Sarriá y col., 2001), ponen de manifiesto estabilidad o incluso incrementos de la absorción (Delgado-Andrade y col., 2005b, 2006). Sólo en animales libres de gérmenes se describió hace mucho tiempo descensos en la digestibilidad del calcio (Andrieux y Sacquet, 1984). La razón estaría en que los complejos PRM-mineral formados

pueden ser hidrolizados por la microflora intestinal, permitiendo la absorción del mineral a nivel del colon (O'Brien y col., 1989).

No se descarta una actuación de la microflora intestinal que haya contribuido a la ruptura de los posibles complejos calcio-PRM constituidos en el intestino de los adolescentes, y con ello este mecanismo puede haber participado en el mantenimiento de la absorción cálcica, pero, además, en esa ausencia de efectos visible deben considerarse otros factores:

- En primer lugar en el digerido intestinal de la dieta existirían otros constituyentes que podrían competir con el calcio por la unión a los PRM, por ejemplo algunos elementos traza con mayor afinidad que lo desplazarían.
- La disponibilidad del calcio dietético era alta. La presencia de compuestos capaces de unir al calcio, mantenerlo en solución y favorecer su absorción, ayudaría directamente al transporte y, además, por su gran afinidad por el nutriente, disminuirían sus posibilidades de unión a sustancias desfavorecedoras menos afines.
- La excreción fecal del calcio es abundante, de ahí que no se pueda descartar la existencia en las heces de alguna pequeña fracción unida a melanoidinas insolubles que no se ha analizado, aunque sí detectamos la existencia de PRM en ellas (datos no publicados).

La actuación de estos mecanismos, en combinación o algunos de ellos aislados, han hecho posible que la absorción del calcio en valor absoluto y su digestibilidad, se mantenga en los chicos durante el consumo de la dieta con mayor contenido de compuestos pardos.

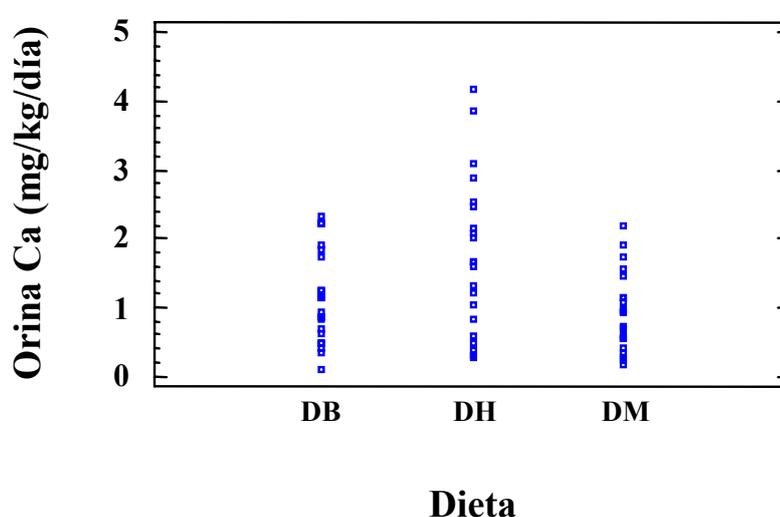
c) Utilización metabólica

c.1. Calcio urinario y marcadores óseos

La concentración de calcio en la orina de los adolescentes consumiendo las dietas blanca y marrón resultó inferior a la que mostraban con la dieta habitual, sin que las diferencias en el volumen excretado pudieran condicionar ese resultado (Tabla 24). Especialmente los volúmenes medios de orina procedentes

de los períodos con las dietas habitual y marrón, 1132 ml/día y 1121 ml/día, respectivamente, coincidieron. El procedente de la dieta blanca fue ligeramente mayor, 1345 ml/día. Por lo tanto, la excreción diaria de calcio vía urinaria se redujo significativamente en paralelo a la ingesta de las dietas experimentales, expresada como mg/día o referida al peso corporal.

Figura 20.- **Dispersión de la excreción urinaria de calcio en las distintas dietas**



Los valores diarios de calcio urinario en el período de la dieta habitual estarían comprendidos entre las cifras que Matkovic (1991) señala para chicos de ambos sexos entre 9 y 17 años, aproximándose más a los descritos en alemanes de la misma edad (Manz y col., 1999). La excreción, referida al peso, se acerca a la cifra de 2 mg/kg/día señalada en dicho colectivo adolescente, separándose más por defecto a las de EEUU (Welch y col., 1995), Francia (Royer y col., 1967), Inglaterra (Ghazali y Barratt, 1974), etc. Solamente un chico consumiendo la dieta habitual (Figura 20), presentó una excreción ligeramente superior a los 4 mg/kg/día considerados como hipercalciuria (Manz y col., 1999) y, en general, todas las excreciones fueron mucho menores, encontrándose entre los valores medios-bajos del estadio.

Podría pensarse que la ingesta no llegaba a cubrir las recomendaciones y de ahí la escasa excreción, sin embargo, aunque en adultos el calcio urinario puede reflejar su ingesta, en adolescentes representa pérdidas renales obligatorias e independientes de la misma. Efectivamente en los chicos del estudio no existió una correlación entre ambos parámetros (Matkovic, 1991). Por tanto hay que pensar que se pierde sólo el calcio indispensable porque es prioritario utilizarlo. A pesar de ello, tras el consumo de las dietas experimentales todavía se produjo una disminución significativa del calcio urinario, con valores del orden de los que Abrams y col. (1997) obtenían en adolescentes varones entre 9-14 años consumiendo una dieta más rica en calcio.

El perfil de excreción urinaria del elemento que muestran los sujetos estudiados, podría reflejarse fielmente en el modelo que describe Peacock (1991) en chicos de la misma edad, en los que a los 13-14 años, partiendo de valores similares a los de nuestros adolescentes, el calcio urinario se reduce a la mitad. Parece que la excreción del nutriente en la orina se incrementa paralelamente con la edad desde la infancia a la etapa adulta, con la excepción de un paréntesis durante la pubertad, en que tiene lugar una disminución más acusada en los varones (Peacock, 1991; Manz y col., 1999).

Si se tiene en cuenta la edad del colectivo y su estadio puberal, se comprende que la situación descrita puede haber tenido lugar, propiciada y favorecida por el cambio dietético, que como se comentará, puede haber estimulado el crecimiento. Además, algunos factores dietéticos son capaces de incidir sobre la calciuria.

Estudios de intervención nutricional han puesto de manifiesto que el incremento en el consumo de frutas y vegetales reduce la eliminación urinaria de calcio en adultos y adolescentes (Tylavsky y col., 2004). Las dietas experimentales conllevan mayor consumo de esos grupos de alimentos, lo que podría convertirse en el primer factor ahorrador del calcio urinario, que en el conjunto de todos los sujetos estuvo correlacionado inversamente con la ingesta de frutas y de legumbres (Tabla 29). Paralelamente se eleva también la ingesta de potasio y de magnesio, superior significativamente en las dietas blanca y marrón. Se sabe que ambos minerales, a través de un mecanismo asociado a la disminución de la producción endógena de ácidos, decrecen el calcio urinario,

efecto demostrado en adultos (Green y Whiting, 1994; Whiting y col., 1997), pero también en adolescentes (Jones y col., 2001).

Por el contrario, el exceso de sodio aumenta el calcio urinario, debido a que el aclaramiento renal del primero está ligado al del segundo. A este respecto puede recordarse que la dieta habitual de los adolescentes propiciaba mayor ingesta de sodio y que la relación Ca/Na en la orina no se modificó con ninguna dieta (Tabla 20). Por último, aunque la ingesta proteica se mantuvo, el cambio hacia mayor consumo de proteína vegetal pudo suponer otra vía que disminuyera la eliminación de calcio, al ser menor, por ejemplo, el efecto calciurético de los compuestos azufrados abundantes en la proteína animal. En esta línea, observamos una correlación positiva entre la ingesta de carne y la excreción urinaria de calcio, de manera que por todas estas vías las dietas experimentales de alguna forma han contribuido a mermar la calciuria, que disminuyó no sólo como cantidad diaria, sino también como índice de excreción de calcio, expresado como calcio/creatinina, que se redujo a la mitad en los períodos de las dietas experimentales, coincidiendo con los índices de otros adolescente de raza blanca en los estadios II y III de Tanner (Hui y col., 2003).

Por lo tanto, aparecen cambios en el destino del calcio absorbido que sugieren modificaciones metabólicas relacionadas con el estadio puberal, que pueden haberse producido porque, junto con la ingesta, la excreción urinaria de calcio es el mayor determinante de la capacidad del cuerpo para almacenar calcio en el esqueleto (Matkovic y col., 1995). De hecho, la correlación entre la absorción del elemento y su índice de excreción urinaria calcio/creatinina existente durante el consumo de la dieta habitual, desapareció en los períodos de intervención nutricional.

El aumento de la creatinina en la orina que se produjo tras las dietas experimentales, podría ser indicativo de mayor crecimiento, ya que en este período sus niveles se incrementan paralelamente a las masas musculares y a la filtración glomerular (Hadj-Aïssa y col., 1994; Remer y col., 2002). En estos ensayos la excreción de creatinina estuvo correlacionada con la talla de los chicos, considerados globalmente (Tabla 29).

El crecimiento del hueso involucra procesos de formación y resorción ósea, y de ahí que aumenten los marcadores de formación, pero también los de resorción (Rauch y col., 2002). Un marcador de formación del hueso, la fosfatasa alcalina ósea, incrementa en chicos y chicas durante la pubertad (Szulc y col., 2000), mientras que la fosfatasa alcalina, menos específica, parece que también aumenta. En nuestro estudio sólo se determinó la última, pero no se observaron cambios consecuentes al consumo de cualquiera de las dietas (Tabla 20).

Los valores de desoxipiridinolina (DPD) en orina de chicos adolescentes se incrementan con el arranque de la pubertad (Mora y col., 1998), siendo más altos durante los estadios de Tanner II y III que en períodos anteriores y posteriores (Mora, 1999; Rauch y col., 2002). Parece existir una más activa resorción ósea en esta etapa que se considera efecto de la hormona del crecimiento (Fujimoto y col., 1995).

El incremento en la excreción de DPD es más pronunciado en los varones que en las chicas, lo que sugiere una activación metabólica más intensa en ellos, que se produce en torno a los 13 años (Fujimoto y col., 1995; Rauch y col., 2002), tal como ocurre en los chicos del ensayo, cuyos valores de DPD con la dieta blanca coinciden estrechamente con los señalados por Rauch y col. (2002) también en varones entre 12 y 13 años.

La excreción urinaria de DPD parece ir en paralelo con la velocidad de crecimiento, y cuando ésta es muy rápida, por ejemplo durante la infancia o en la pubertad, aumenta su excreción, habiéndose descrito una correlación positiva entre ambas variables (Branca y col., 2002). Aunque en este estudio no se ha obtenido dicha correlación, seguramente por la corta duración del experimento, el incremento significativo que se produjo tras el consumo de las dietas blanca y marrón parece compatible con el estirón puberal. De hecho, durante los 70 días del ensayo, los chicos incrementaron su talla en 1,7-2 cm, lo que supone un aumento anual de 8,9-10,4 cm, cercano o dentro del pico de máximo crecimiento (Bollen, 2000).

Nuevamente habría que señalar que tal estimulación del crecimiento fue posible dado el estadio fisiológico en el que se encontraba, unido al aporte de una dieta más saludable. El metabolismo óseo depende intensamente del estatus

nutritivo (Szulc y col., 2000) y el remodelado se deprime en niños malnutridos (Branca y col., 1992; Ndiaye y col., 1995) Aunque éste no era el caso de los chicos consumiendo su dieta habitual, parece evidente que una dieta más variada, en la que los déficit y excesos se minimizaron, ajustándola mejor a las necesidades, suponga un sustento más idóneo del crecimiento. Aunque las características genéticas son los mayores determinantes de las masas óseas, otros factores, entre los que se incluyen la ingesta de nutrientes, afectan también la acumulación de hueso durante la infancia y la adolescencia (Kun y col., 2001), con la ventaja de que estos factores ambientales son susceptibles de modificarse para alcanzar en esta etapa una acreción óptima y, con ella, mejorar la futura salud ósea.

c.2. Retención

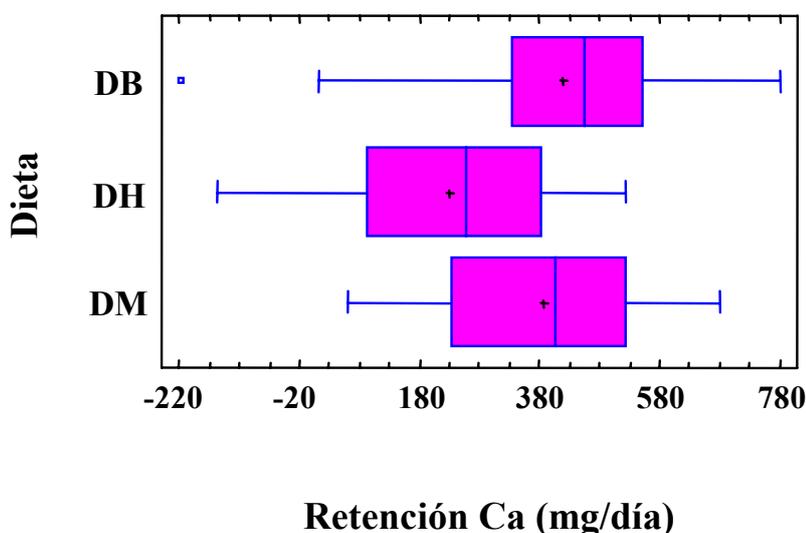
Algunos de los anteriores parámetros descritos parecen indicar una aceleración del remodelado, tendente a favorecer el crecimiento del hueso que se acompaña de un balance de calcio más positivo en los períodos de intervención nutricional (Tabla 25). La mayor retención se produjo en los adolescentes bajo el consumo de ambas dietas, sin diferencias entre ellos, siendo fruto de la tendencia a elevarse el calcio ingerido y absorbido y, sobre todo, de la disminución significativa del calcio urinario, hechos que, unidos, conllevan un incremento significativo y acusado de la retención del mineral.

Bajo el consumo de la dieta habitual el 25% de los sujetos tuvieron retenciones inferiores a 90 mg/día, valores intermedios entre los percentiles 10 y 25 de chicos daneses de 11-12 años (Mølgaard y col., 1999), mientras que sólo otro 25% alcanzaría las cifras de retención descritas en el estirón puberal (NIH Consensus Conference, 1994) (Figura 21).

Tras el consumo de las dietas experimentales los valores de los percentiles se elevaron considerablemente, de forma que al menos el 50% de ellos e incluso el 75% en la dieta blanca, mostraban ya las retenciones cálcicas frecuentes en el pico de máximo crecimiento (NIH Consensus Conference, 1994). Estas retenciones se inscribirían entre los valores más altos señalados en la pubertad, ya que, por ejemplo, el 50% de los chicos retuvieron más de 400 mg de calcio

diarios, mientras que esta cifra sólo la alcanza un 31% de los sujetos en el estudio realizado por Bailey y col. (2000) en un colectivo más amplio y en torno a los 14 años, habiendo sido determinada mediante un cálculo indirecto utilizando Absorciometría de rayos X de energía dual (DXA).

Figura 21.- **Diagrama de cajas y bigotes para la retención de calcio tras el consumo de las distintas dietas**



Somos conscientes de que los datos de balance en nuestro ensayo pueden estar sobreestimados al no haberse considerado pérdidas por el sudor, próximas a los 50 mg/día (Whiting y col., 2004) u otras menores, con lo que la cifra de retención se vería disminuida. No obstante, seguiría existiendo un claro incremento del balance cálcico en las dietas experimentales con valores propios del estirón puberal, como ya se ha dicho.

El incremento de la hormona del crecimiento y de los esteroides sexuales durante la pubertad, aceleran la producción de masas óseas y la densidad mineral del hueso (Boot y col., 1997), a la que también contribuye el $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Por ello se produce un agudo aumento de la acreción cálcica, como constituyente fundamental del mineral óseo, en esta etapa de la vida y una más eficaz utilización del elemento para hacerlo posible. Es por esto que en una dieta

adecuada, la biodisponibilidad del calcio, cuantificada en el porcentaje retenido del ingerido, se eleve, alcanzando valores de 36,5% en los chicos y 29,6% en las chicas o incluso superiores cuando las dietas no son muy ricas en calcio (Bailey y col., 2000). Esos porcentajes son del orden de los que presentan los adolescentes del ensayo consumiendo las dietas blanca y marrón que, aunque sin diferencias significativas, fueron superiores a la eficacia de utilización del calcio en la dieta habitual en unos 16 puntos la dieta blanca y en 14 la marrón (Tabla 26).

Hay que tener presente que otros determinantes de la densidad mineral son el peso y la talla alcanzada, factores muy importantes durante la niñez y la adolescencia (Cvijetic y col., 2003), lo que explica la correlación existente entre la retención cálcica y su eficacia con el peso, así como la relación positiva que aparece entre el porcentaje retenido/ingerido y el incremento de la talla, observados en los chicos consumiendo la dieta blanca, etapa en la que se producía la máxima retención (Tabla 29).

Queda patente que durante la intervención nutricional se produce una mejor utilización del calcio de forma que los chicos alcanzan retenciones propias del máximo crecimiento. Dos han debido ser los motores fundamentales para el cambio: el estadio fisiológico de los adolescentes y la dieta consumida. La dieta, junto con otros factores modificables, influencia la consecución o no del pico de masa ósea programado genéticamente. El calcio es un nutriente particularmente importante, ya que esa cota máxima se alcanza cuando se satisface el balance umbral. Dicho umbral es el nivel de ingesta de calcio por debajo del cual la retención varía con la ingesta y por encima del cual permanece constante (Matkovic, 1992). En el ensayo se observó que la retención correlacionaba positivamente con su ingesta, lo que nos lleva a pensar que el calcio consumido por los chicos se hallaba por debajo del valor umbral y, por tanto, apuntaría la conveniencia de elevar la ingesta cálcica del colectivo como vía de mejorar la adquisición de mineral óseo y prevenir riesgos futuros.

Además, la retención cálcica es también dependiente del resto de la dieta. Recientemente, Weaver y Liebman (2002) indicaban cómo en un futuro próximo se entenderá mejor la incidencia de factores dietéticos en el binomio ingesta-retención de calcio.

Efectivamente el metabolismo del nutriente cambia durante la adolescencia, mejorando la absorción, disminuyendo la excreción urinaria, etc. La influencia de la dieta se va ejerciendo por actuaciones sobre esos distintos niveles de la utilización del calcio, siempre con el objetivo final de aumentar la acreción cálcica, tal como ha quedado manifiesto. Así, la adquisición de mineral óseo durante el estadio biológico se correlaciona con la ingesta energética (Cadogan y col., 1997), que se elevó en las dietas experimentales.

El rango de proteína adecuado para el crecimiento es amplio (0,6-2,9 g/kg) (Rodríguez, 2005); el valor de 1,41 de las dietas habitual y de las experimentales, a base de proteína de buena calidad, lo situaban en una media muy idónea para hacerlo posible. A pesar de que se alega que el exceso de proteína, sobre todo la de origen animal, puede tener un efecto deletéreo sobre el hueso, dependiente de la carga ácida que ocasiona, ya que para tamponarla el organismo recurre a la disolución ósea y se incrementa la calciuria, no todos los autores magnifican estos efectos, y por el contrario, aducen la importancia de la proteína en el crecimiento, aumentando la absorción del calcio, estimulando la producción de IGF-1, factor beneficioso sobre el desarrollo esquelético y la formación ósea (Bonjour, 2005).

Si se balancean las distintas tendencias sobre la bondad de la proteína vegetal o animal, lo que parece lógico es que una proteína más variada, cuyo aporte proceda de mayor número de fuentes, esencialmente de alto valor biológico, incluidas las vegetales, posiblemente producirá un efecto de complementación que redundará en su calidad y seguramente en un efecto más positivo sobre la acreción ósea, tal como parece ocurrir con las dietas blanca y marrón.

Una asociación positiva entre el consumo de frutas y verduras y la salud ósea se describió primero en la población anciana (Macdonald y col., 2004) pero más tarde se ha demostrado también en la pubertad, durante la adquisición del pico de masas óseas en ambos sexos (Tylavsky y col., 2004; Vatanparast y col., 2005). La explicación reside en que el hueso tiene función de buffer en el organismo, neutralizando la importante carga de ácidos que origina la dieta Occidental típica, rica en proteína animal, cereales, etc., lo que puede ocasionar una pérdida de hueso (Vatanparast y col., 2005). Una dieta más abundante en frutas y verduras

como la dieta Mediterránea o la de los ensayos, proporciona, por una parte, una proteína menos rica en aminoácidos azufrados, cuyo metabolismo genera sulfúrico que aumenta la excreción de calcio, de forma que un menor aporte de estos aminoácidos protege la resorción ósea. Además, en los vegetales abundan nutrientes como potasio, magnesio, etc., que generan bases capaces de neutralizar la carga ácida metabólica sin recurrir al hueso, con lo que, indirectamente, previenen la resorción (McGartland y col., 2004). Además, en estos alimentos abunda la vitamina K, que es un cofactor esencial de la actividad osteoblástica (Feskanich y col., 1999). Por último, los antioxidantes naturales y fitoestrógenos parecen ejercer un efecto saludable sobre el tejido óseo (Wangen y col., 2000), que en el caso de los fitoestrógenos podría deberse a una protección de la resorción ósea del tipo de la de los estrógenos, aunque no está completamente corroborado (Chiechi y Micheli, 2005).

Por estas y otras razones se comprende la idea más actual de considerar la dieta Mediterránea como beneficiosa para la salud ósea y la prevención de la osteoporosis (Valtueña y col., 2001).

Los anteriores datos y estas afirmaciones, extrapoladas a los resultados de nuestros ensayos, nos permitirían decir que las dietas experimentales eran más idóneas que la habitual para la acreción cálcica de los adolescentes, y por extensión, que una dieta con suficiente calcio y basada en los patrones de la dieta Mediterránea, resulta favorable para la utilización ósea durante el crecimiento.

c.3. Influencia del consumo de dietas ricas en productos pardos

Excreción urinaria

La concentración de calcio en la orina de los adolescentes del ensayo no varió por el consumo de las dietas blanca y marrón, y los volúmenes de orina fueron próximos aunque ligeramente superiores de los que consumieron la dieta con menor contenido de PRM. De ahí que tampoco variase la excreción diaria del mineral por esta vía, si bien se apuntó una tendencia hacia mayor eliminación con la dieta blanca, como se observa al comparar los valores de los percentiles en ambos grupos, especialmente a partir del percentil 50 (Tabla 24).

Por lo tanto no se manifiesta la hiperexcreción descrita para otros minerales, paralela al consumo de derivados de Maillard en humanos (Freeman y col., 1975), que tampoco se ha encontrado en la bibliografía referida al calcio. Trabajos experimentales en animales, utilizando PRM, procedentes de mezclas aminoácido-azúcar, adicionadas a dietas experimentales de ratas u originados por el calentamiento de la caseína de la dieta con glucosa y fructosa (Seiquer y col., 2001a), muestran estabilidad en la excreción urinaria (Andrieux y Sacquet, 1984) o incrementos que no llegan a modificar el balance (O'Brien y col., 1994, Seiquer y col., 2001a).

Por sus propiedades quelantes, los PRM pueden unir minerales en el lumen o incluso en el medio interno; los complejos formados, tras ser absorbidos o desde el interior del organismo, serían excretados en la orina, posiblemente por su escasa funcionalidad, aunque ésta es poco conocida (Erbersdobler y Faist, 2001). No obstante, dada la menor afinidad entre el calcio y los compuestos pardos, se comprende que la eliminación del elemento en la orina de estos ensayos aparezca libre de modificaciones cuantitativas, que no se observaron como calcio urinario total ni tampoco como índice de excreción de calcio/creatinina o calcio/sodio. Se justifica refiriéndonos a la afinidad porque se comprobó una eliminación de compuestos pardos por esta vía, reflejada en el aumento del índice de color en la orina de los chicos durante el consumo de la dieta marrón (Seiquer y col., 2006b).

Al no tratarse de un catión, el fósforo podría separarse del efecto acomplejante de las melanoidinas; sin embargo, previsiblemente por otros mecanismos, su utilización puede verse alterada y modificada su excreción urinaria, como describe Delgado-Andrade (2002) en ratas que ingieren derivados pardos de glucosa-lisina o glucosa-metionina. Por el contrario, en los chicos el fósforo urinario no se modificó, por lo que dada la relación existente entre calcio y fósforo para su destino metabólico en el hueso, la estabilidad de la relación fósforo/creatinina apuntaría, en principio, ausencia de cambios metabólicos.

Efectivamente la hormona paratiroidea y la fosfatasa alcalina no se alteraron por el consumo de la dieta más rica en PRM y, como era de esperar, la calcemia permaneció inalterada (Tabla 20).

Retención

El balance de calcio no se vio modificado por el consumo de la dieta blanca o marrón, los valores fueron próximos y sin diferencias estadísticas. Como se comentaba en el apartado anterior, al menos el 50% de de los chicos mostraban retenciones de calcio altas, propias del estirón puberal, con ambas dietas.

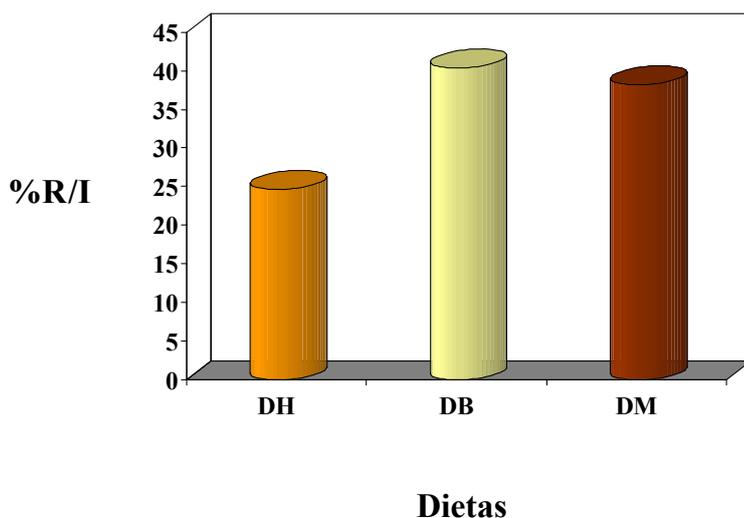
De forma más detallada y por grupos cabe añadir que, los valores más bajos de los percentiles, sobre todo el del percentil 25, corresponden a los chicos consumiendo la dieta marrón y que de los 20 participantes 13 alcanzaron cifras más altas de retención cálcica durante la etapa con la dieta blanca (Figura 19). No obstante, se debe incidir en que las diferencias no fueron significativas, en línea con lo observado en ensayos de balance con animales consumiendo dietas con PRM procedentes de diferentes mezclas aminoácido-azúcar o proteínas calentadas, en los que tampoco se apreciaron cambios (Seiquer y col., 2001a; Delgado-Andrade y col., 2006). Sin embargo, sí se ha descrito un descenso significativo en la retención del mineral en ratas alimentadas con fórmulas infantiles esterilizadas en botella, en las que se había desarrollado la reacción de Maillard, si bien, en este caso la disminución estuvo parcialmente mediatizada por una menor ingesta y también por menor eficacia del proceso de absorción (Sarriá y col., 2001). Este último efecto tampoco se produjo en los ensayos de la presente memoria, ya que la eficacia de utilización del calcio, porcentaje retenido/ingerido, fue similar en ambos grupos (Figura 22), lo que puede resumirse diciendo que la biodisponibilidad del calcio en el seno de las dietas blanca y marrón no fue diferente.

La biodisponibilidad es este contexto da idea de eficacia de utilización global, indica que cuantitativamente no han existido cambios, pero no certifica la ausencia de modificaciones metabólicas que globalmente no se hayan reflejado en el balance. De hecho, en trabajos anteriores del grupo se observó que el consumo de PRM, procedentes del calentamiento a varias temperaturas de glucosa-lisina y glucosa-metionina, sin alterar el balance, disminuía la cantidad y concentración de calcio en el fémur de ratas (Delgado-Andrade y col., 2005c).

En este caso no se ha medido la densidad mineral del hueso ni otros parámetros relacionados. Lo que sí se observó fue una disminución de la DPD en

la orina de los chicos consumiendo la dieta marrón, resultado para el que, por el momento, carecemos de una explicación clara, y en el que merecería la pena abundar y comprobar con más individuos.

Figura 22.- **Biodisponibilidad del calcio tras el consumo de las distintas dietas**



En los últimos tiempos se apunta una línea de investigación que relaciona los productos de glicosilación avanzada (AGE), o productos de Maillard endógeno, con modificaciones óseas de previsible implicaciones en la osteoporosis.

El colágeno de la matriz ósea es una proteína de vida media larga muy sensible a la glicación in vivo (Sajithlalj y col., 1999); la oxidación de las proteínas glicadas se involucra en la formación de AGE y en el entrecruzamiento o *cross-linking* del colágeno, transformación que lo hace más viscoso, menos digestible, más rígido y pardeado, afectando sus propiedades bioquímicas, mecánicas y su funcionalidad (Levi y Werman, 1998; Yanga y col., 2003).

Se ha sugerido que la formación de los AGE en la matriz ósea altera su capacidad para inducir la formación de hueso y la actividad osteoblástica parece deprimirse (Yamamoto y col., 2001); se reduce la actividad de la fosfatasa alcalina ósea y la capacidad de los osteoblastos para captar calcio (Mccarthy y col., 1997), favoreciéndose la resorción y la salida de calcio óseo (Miyata y col.,

1996); todo ello puede relacionarse con la osteoporosis que ocurre en el envejecimiento.

Así mismo, otra proteína de la matriz ósea, la osteocalcina, que por sus residuos γ -carboxiglutamato se une ávidamente al principal mineral óseo, el hidroxapatito, puede glicarse. Se ha visto que la osteocalcina glicada es escasa en niños, relativamente constante en adultos, en los que la formación y resorción óseas están acopladas, y se incrementa linealmente, a partir de los 60 años, cuando la resorción prima sobre la formación (Gundberg y col., 1986).

Resultados más recientes inciden en la posible relación del Maillard endógeno con anomalías óseas o con agentes involucrados en el metabolismo del calcio y del hueso. Así, en pacientes de hemodiálisis se ha observado que los niveles plasmáticos de la hormona paratiroidea (PTH) estaban correlacionados con los de carboximetilisina (Kokot y col., 2003) y con los de pentosidina, indicando que la acumulación de AGEs puede ser un factor participante en el descenso del turnover óseo (Panuccio y col., 2002).

Por otra parte, a través de sus resultados en cultivos de osteoblastos humanos, Yamamoto y col. (2001) sugieren que los AGE participan en enfermedades de adinamia ósea, por inhibición de la actividad osteoblástica y depresión de la secreción de PTH en respuesta a la hipocalcemia. Además, algunos AGE parecen inhibir la maduración de células mesenquimales originarias del hueso, y así retrasan la reparación del tejido (Kume y col., 2005).

Nuestros resultados no manifiestan ninguna alteración de la PTH. La DPD, como se sabe, es un marcador de resorción ósea que aumenta paralelamente al incremento de la resorción, por lo que, de acuerdo con lo señalado, parecería, en principio, que debería haber incrementado en los chicos con la dieta marrón, al contrario de lo que ha ocurrido. No obstante, durante la adolescencia, la DPD es esencialmente un indicador de remodelado, reflejando la intensificación de los procesos de formación-resorción para hacer posible el crecimiento. Por tanto, los menores valores durante la etapa marrón podrían estar apuntando menor remodelado, y un cierto descenso en la intensidad de dichos procesos, que, con matices, podría inscribirse en la disminución del turnover óseo que señalaban Gundberg y col. (1986) y más tarde, Panuccio y col. (2002).

Para relacionar este hecho con el consumo de una dieta más rica en productos pardos, podemos indicar que los compuestos de Amadori ingeridos se absorben por difusión, y son captados en el hígado, riñón, músculo y eliminados en la orina, en la que también aparecen PRM más avanzados, la carboximetilisina, la pentosidina, etc. Además, las melanoidinas o sus productos de degradación microbiana pueden también absorberse (Erbersdobler y Faist, 2001; Faist y Erbersdobler, 2001). Sin embargo, poco se conoce acerca de sus efectos fisiológicos, toxicológicos, etc., hasta el punto que Erbersdobler y Faist (2001) planteaban la cuestión de si los PRM dietéticos son sinérgicos o antagónicos de sus análogos endógenos.

Abundando en el tema, Takeuchi y col. (2000) consideraban que los PRM alimentarios podían ser una fuente importante de los productos de glicación avanzada existentes en el plasma y en el interior de la célula. Investigaciones posteriores lo corroboran y, así, Kankova y Sebecoba (2005) señalan que los AGE exógenos, procedentes de la dieta y absorbidos en el intestino, contribuyen a incrementar los plasmáticos, capaces de ser modulados mediante intervención nutricional (Vlassara y col., 2002).

En este efecto sinérgico de los PRM exógenos con sus análogos endógenos se sustentaría la hipótesis que se plantea y que atribuye a la dieta marrón unas características menos positivas que la blanca sobre el remodelado óseo en período de crecimiento.

Se debe insistir en que esta sospecha se basa en un solo resultado, mientras otros no muestran cambios, pero se apunta por las importantes repercusiones que, de confirmarse por completo, podría tener sobre el metabolismo óseo.

En apoyo de esta idea se observó una correlación negativa entre la DPD y el calcio urinario en los chicos al consumir la dieta marrón, y entre la DPD y el calcio fecal en los chicos que tomaban su dieta habitual, ambas dietas con mayores contenidos de PRM, que podría entenderse porque los menores valores de DPD sinónimos de menor turnover óseo, implicarían menores necesidades de calcio, menor absorción y retención y, por tanto, mayores excreciones fecal y urinaria.

3. HIERRO

3.1. Contribución de los distintos grupos de alimentos al aporte diario de hierro en la dieta

Los cereales constituyeron el aporte mayoritario de hierro en las tres dietas, principalmente en la marrón, que supuso la mitad de ese aporte, resultando significativamente mayor al de la habitual y la blanca, con valores próximos (Tablas 30 y 31. Figura 23). De hecho, la ingesta de hierro estuvo positivamente correlacionada con el consumo de cereales, de forma global las tres dietas y, particularmente la blanca y la marrón, alcanzando en esta última la mejor correlación (Tabla 41). Ese mayor consumo del micronutriente fue debido a los cereales de desayuno que, como se sabe, están enriquecidos en hierro, alimento que no tomaron los chicos en la dieta blanca, y que lo comieron en menor cantidad en la habitual.

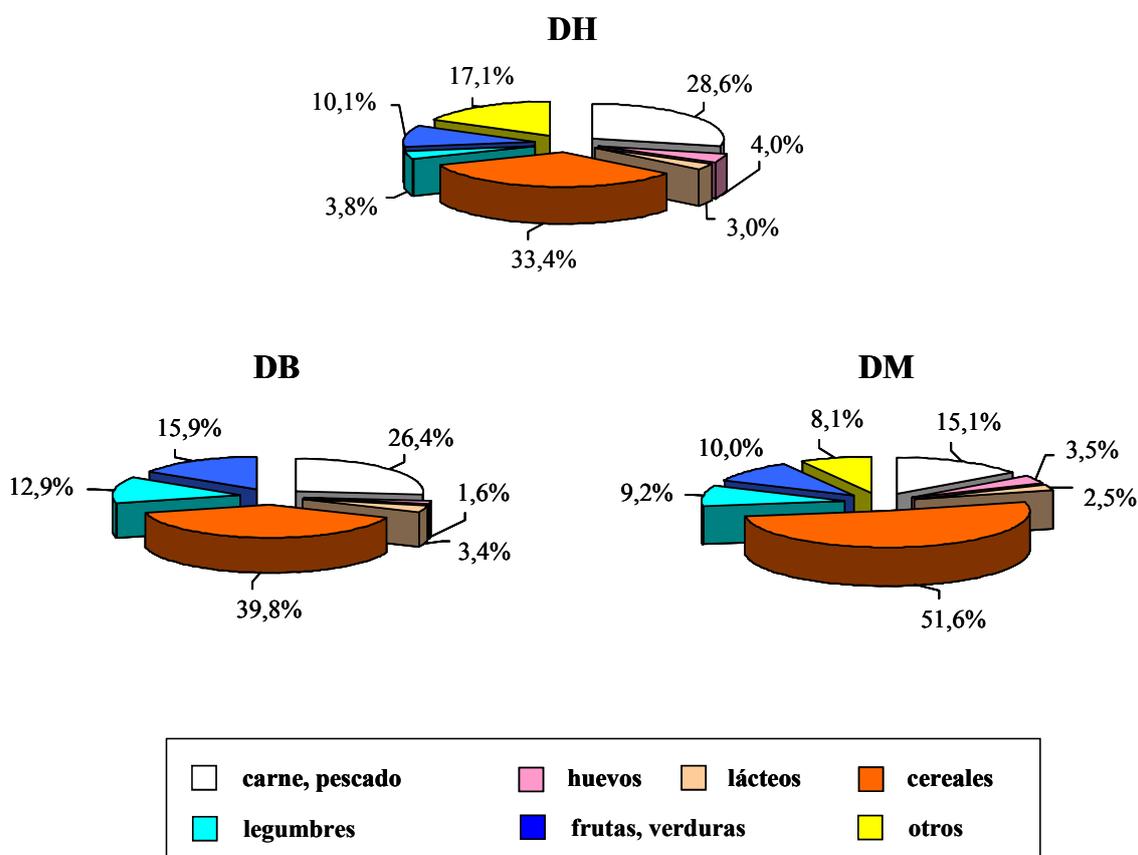
Las carnes y los pescados fueron el segundo grupo de mayor aporte de hierro en las tres dietas, aunque en menor medida en las experimentales que en la habitual. Le siguieron las frutas y las verduras, que proporcionaron entre un 10 y un 15% del hierro diario. Así, la cantidad de verduras consumidas y la ingesta de hierro estuvieron correlacionados en las dietas blanca y marrón, en las que tendió a incrementarse el consumo de este grupo de alimentos.

Cabe destacar otro grupo importante en la contribución diaria del mineral, englobado como “otras fuentes” de alimentos, donde se incluye el cacao, fruto rico en hierro que, ausente en la dieta blanca, aportó una destacada cantidad del elemento en la dieta habitual y, en menor grado, en la marrón, consumiéndose principalmente en forma de cacao en polvo y chocolate en desayunos y meriendas.

El hierro proporcionado por los huevos en la dieta blanca fue significativamente menor respecto de las dos dietas restantes, reflejo de un inferior consumo en raciones/día de este alimento (Tabla 12). La ausencia de fritos y rebozados en la dieta pobre en productos pardos puede ser la causa del resultado, siendo, en este aspecto, más semejantes las dietas habitual y marrón.

Las legumbres, alimentos ricos en hierro, contribuyeron con un bajo porcentaje a la ingesta total diaria del mineral en la dieta habitual, debido a su bajo consumo, aumentándose de forma significativa durante el período experimental. Los lácteos, como era de esperar, fueron una fuente minoritaria del micronutriente.

Figura 23.- **Distribución porcentual de la ingesta de hierro entre los distintos alimentos**



El cambio que experimentó el patrón de las fuentes de hierro desde la dieta habitual hacia los de la intervención nutricional recuerda, pero en sentido inverso, a la evolución que se produce en las fuentes alimentarias del micronutriente en la dieta de la población española desde los años 60 a los 90. De forma que la distribución del hierro por grupos de alimentos en la dieta habitual se asemeja a la de 1991, mientras que las de las dietas blanca y marrón, recuerdan más a la que

tenía nuestra población en 1964, época en la que el aporte máximo procedía también de los cereales (Varela y col., 1995).

La contribución de cada grupo de alimentos al hierro dietético, encontrado en el estudio enKid para chicos varones españoles de 10 a 13 años, podría casi solaparse con la de la dieta habitual de los adolescentes del ensayo, alejándose de las dietas experimentales, salvo en el hierro de carnes y pescados consumido con la dieta blanca, que se aproxima al 26,5% señalado en el estudio enKid (Román Viñas y col., 2004).

A su vez, la distribución del hierro dietético entre las distintas fuentes alimentarias fue similar a la descrita en otros estudios de adolescentes europeos (Kersting y col., 2001) y a la de la población general americana (Guthrie y Picciano, 1995) o italiana (Lombardi-Boccia y col., 2003), donde los cereales, junto con las carnes y pescados, contribuyen de forma mayoritaria a la ingesta diaria del nutriente.

Si bien la contribución de las carnes al hierro total de la dieta habitual estuvo entre los valores superiores descritos en otros países, dicho aporte descendió notablemente en las dietas experimentales, aproximándose al 19,1% mostrado para la población alemana de 4-19 años (Kersting y col., 2001) y al 20% observado en la dieta de la población italiana (Lombardi-Boccia y col., 2003). El hierro del pescado en la dieta habitual (1,4%) fue similar al encontrado en los adolescentes alemanes y, a pesar del aumento producido en las dietas experimentales, no se llegó a alcanzar el 5% de los italianos.

Por otra parte, la cifra de hierro de los cereales en la dieta habitual, próxima a las de los europeos, se acercó en la blanca al 43% observado en los americanos e incluso se superó en la marrón. Según Guthrie y Picciano (1995), la fortificación o enriquecimiento en hierro de los cereales los convierte en una fuente rica en hierro, haciendo que su consumo suponga una contribución importante a la ingesta diaria del mineral en la población americana, situación similar a la de los adolescentes del estudio, como ya se ha mencionado.

Aunque la proporción de hierro hemo varía en los tejidos animales, de acuerdo con el modelo de Carpenter y Mahoney (1992), adaptado a poblaciones que consumen más carne y menos pollo y pescado, se puede considerar que el

45% del hierro total presente en dichos tejidos está en forma hémica, siendo hierro no hemo el 55% restante y todo el de los productos vegetales. Según esto, se calcula que aproximadamente 2 mg en la dieta habitual y 1,7 y 1,3 mg en la blanca y marrón, respectivamente, eran hierro hémico. Estos valores, aunque próximos, se separan al referirlos como porcentaje del hierro total de la dieta, dado el mayor contenido del micronutriente en la dieta marrón, en la que el hierro hémico suponía un 7% del total, frente al 13 y al 12% de la dieta habitual y blanca. A pesar de ser más bajo, el porcentaje de la dieta marrón estaría comprendido entre el 5-10% estimado para la dieta Occidental típica (Yip y col., 1998).

3.2. Balance de hierro

a) Ingesta

Nuevamente hay que señalar la discrepancia existente entre la ingesta de hierro en la dieta habitual en las Tablas 15 y 33. Las razones ya se describieron en el apartado del calcio.

En este elemento el porcentaje de incremento aplicado a la dieta habitual coincide más con las diferencias entre vía informática y analítica, aparecidas en la dieta marrón, debido a la mayor proximidad entre ambas y a la presencia de alimentos consumidos casi con exclusividad en estas dietas, por ejemplo, algunos tipos de bollería que frecuentemente incluían chocolate, ciertas marcas de cereales de desayuno, etc., cuyas concentraciones de hierro no estaban incluidas en la base de datos del programa informático. Así, el incremento aplicado correspondió en tres cuartas partes al observado en el análisis de la dieta marrón y en una cuarta parte al de la blanca (Mesías y col., 2005).

La ingesta de hierro diaria de los chicos consumiendo su dieta habitual se aproximaba mucho a la media de la población española (14,2 mg/persona/día), a la de Andalucía (14,1 mg/persona/día) y, sobre todo, coincidía con la de la población de Granada (15,1 mg/persona/día) (Varela y col., 1995), lo que sugiere que la dieta habitual, por lo que al hierro se refiere, reflejaba fielmente las características de la dieta de esta zona.

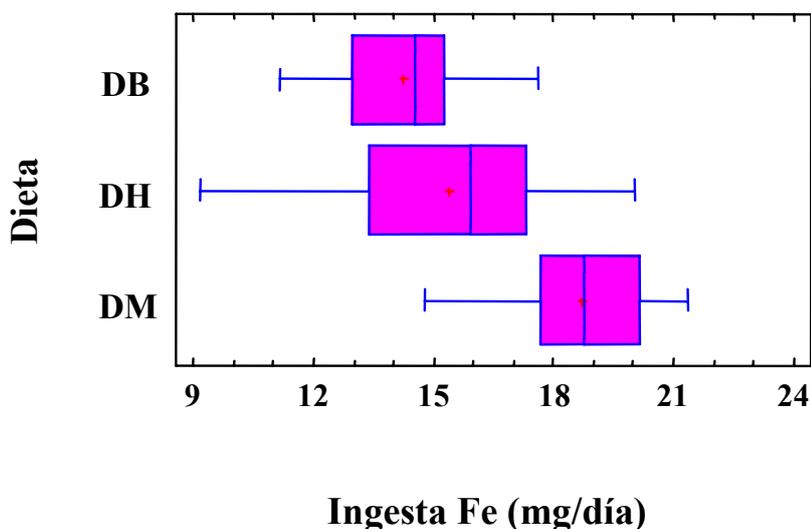
Centrándonos en la población adolescente, la cifra de hierro ingerido habitualmente parece intermedia entre los datos de estudios epidemiológicos realizados en diversas comunidades autónomas en varones españoles de la misma edad (Estudio CAENPE, 1994; Galán y Martínez Valverde, 1995; Leis y col., 1999). A su vez, la ingesta de hierro del colectivo coincide exactamente con la que se describe para los chicos españoles de 10 a 13 años en el estudio enKid (15,1 mg Fe/día) (Serra-Majem y col., 2006a). Sin embargo, siempre sobrepasa a la que, a nivel europeo, se señala para la misma población de Finlandia, Austria, Grecia, Portugal, etc. (Elmadfa y Weichselbaum, 2005), siendo del orden de las ingestas férricas de adolescentes americanos (U.S. Department of Health and Human Services, 2004), que parecen superiores a las de los europeos. Puede recordarse que de los dos grupos de alimentos mayoritarios en el aporte de hierro, el consumo de cereales en los chicos era adecuado, y el de carnes alto, coincidiendo con la tendencia descrita en la población española en los últimos años, que ha conducido a que la ingesta de productos cárnicos se haya elevado en España por encima de la de cualquier otro país europeo (García-Closas y col., 2006). Ambos hechos pueden haber contribuido a que la ingesta de hierro en el grupo, y la de otros adolescentes españoles, supere a la del resto de Europa, que en algunos casos no alcanzaban las recomendaciones. Por el contrario, en el colectivo empleado en el estudio se satisfacían plenamente, tanto si se considera el valor de 12 mg/día, en cuyo caso supondría un 128% de las recomendaciones, o de 15 mg/día, 102% de las ingestas recomendadas (Moreiras y col., 2004).

Además, la calidad del hierro de la dieta resultaba buena, por el contenido de hierro hémico ya comentado y, además, porque la disponibilidad del no hémico en la dieta, de acuerdo con Monsen (1982), podía considerarse alta, por contener más de 90 mg de carnes y entre 25-75 mg de ácido ascórbico.

Existió cierta disparidad entre los individuos en el hierro consumido con su dieta habitual (Figura 24). No obstante, el valor de los 3 percentiles controlados alcanzaba o superaba las ingestas recomendadas; solamente dos chicos presentaron valores por debajo, pero próximos al 80% de las recomendaciones. Con el consumo de las dietas experimentales, la variabilidad entre sujetos se redujo, incrementándose la ingesta media del mineral y el valor de todos los percentiles con la dieta marrón, que resultó significativamente superior a la de la

blanca y a la de la habitual. No obstante, el hierro ingerido en la dieta marrón fue del orden de los datos descritos en otros estudios de adolescentes españoles: madrileños (Estudio CAENPE, 1994), catalanes (Garbayo Solana y col., 2000), etc.

Figura 24.- **Diagrama de cajas y bigotes para la ingesta de hierro tras el consumo de las distintas dietas**



Ciertamente, en el diseño de las dietas experimentales ya existían algunas diferencias en el aporte de hierro (Tabla 6), que se han incrementado por las variaciones individuales en el consumo y como resultado de las determinaciones analíticas. La desviación positiva de la dieta marrón se debe:

- Al mayor grado de adhesión a la dieta, ya señalado.
- A que precisamente los alimentos menos rechazados solían ser los más ricos en hierro: cereales de desayuno, carnes, bollería y batidos con chocolate, cacao en polvo, etc. A excepción de las carnes, los demás alimentos enumerados no formaban parte de la dieta blanca por su alto contenido en PRM; por ejemplo, el batido de chocolate en la dieta marrón frente al de vainilla en la blanca (Tabla 11.4).

- A que el contenido de hierro de algunos de estos alimentos no estaba considerado en el programa informático.

A pesar de lo anterior, debe incidirse en que la ingesta férrica de todos los chicos, consumiendo la dieta blanca satisfacía los requerimientos (Figura 24). Además, la densidad de hierro en la dieta (6,5 mg/1000 kcal) se equiparaba a la de la dieta típica Occidental (6 mg/1000 kcal) (Institute of Medicine, 2001). Si bien el percentil 25 resultaba ligeramente inferior al de la población española masculina de entre 10-13 años, los percentiles 50 y 75 coincidían, mientras que los de la dieta marrón los superaban (Serra Majem y Aranceta Bartrina, 2004).

b) Utilización digestiva

b.1. Excreción fecal

La concentración fecal de hierro fue próxima tras el consumo de las dietas habitual y marrón, a pesar de la mayor ingesta de esta última. Por el contrario, en las heces procedentes de los chicos en los períodos en que consumieron la dieta blanca, dicha concentración disminuyó significativamente, lo que no puede atribuirse a un mayor peso fecal, como ya se ha comentado, sino que puede depender de la menor ingesta. Ambos parámetros estuvieron correlacionados globalmente y en esta dieta.

En concordancia con lo anterior, la excreción diaria de hierro disminuyó significativamente con la dieta blanca, comparada con la habitual y la marrón, pasando de representar aproximadamente un 70% del hierro ingerido con la dieta blanca a un 89% y 93% en la marrón y habitual, respectivamente, que no difirieron entre sí. La tónica de las medias se reflejó igualmente en los percentiles, resultando siempre inferiores los de la dieta blanca respecto a los valores con las otras dos dietas (Tabla 33).

b.2. Absorción y digestibilidad

Los valores de absorción diaria de hierro variaron ampliamente entre los chicos consumiendo todas y cada una de las dietas, especialmente con su dieta habitual y en los períodos de la dieta marrón, pasando desde algunos valores

negativos hasta cifras positivas claramente altas (Tabla 35. Figura 25). Está bien documentado que día a día el hierro absorbido cambia (Baynes y col., 1987), así como la existencia de amplias variaciones interindividuales a partir de una misma dieta, que se manifiestan también en niños al comprobar rangos de absorción entre 0,7 y 2,31% a partir de una misma dosis (Kastenmayer y col., 1994).

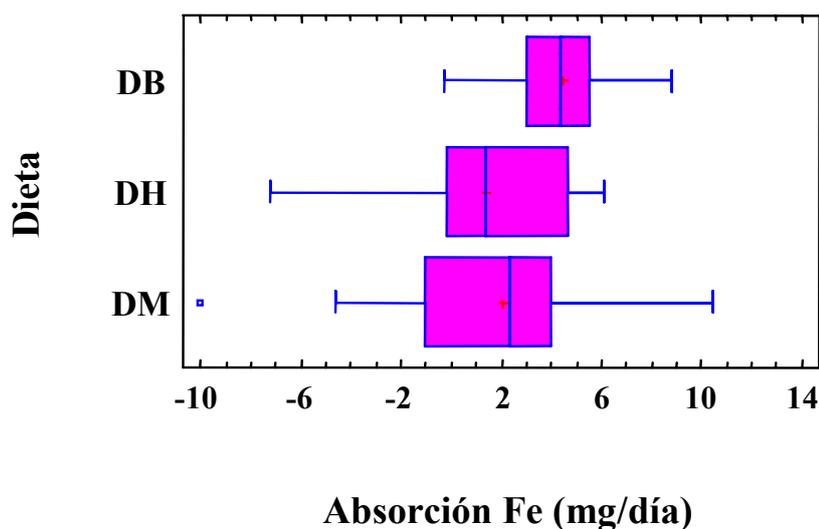
La media de hierro absorbido diariamente con la dieta habitual se inscribe en los valores establecidos por Bothwell y col. (1979) en su diagrama de utilización del hierro, 0,5-2 mg/día y satisface las necesidades de absorción de 1mg/día para la población adulta (Hallberg y col., 1997), la del período de preadolescencia (Rossander-Hulthen y Hallberg, 1996) e, incluso, los valores más bajos señalados para chicos adolescentes (British Nutrition Foundation, 1995). Sin embargo, otros autores consideran que la expansión de compartimentos ricos en hierro, como la mioglobina del tejido muscular y sobre todo la hemoglobina de los glóbulos rojos, que se producen durante el estirón puberal, demanda mayores cantidades de hierro absorbido, que fijan en 1,47 mg/día (Fomon y col., 2003), 1,8 mg/día (National Research Council, 1989), entre 1,45 y 2,03 mg (Fairweather-Tait, 1996) o incluso Ilich-Ernst y col. (1998) consideran que, dependiendo del desarrollo puberal, los chicos pueden llegar a requerir hasta 3 mg/día.

Queda claro que con la dieta habitual más del 50% de los chicos no alcanzaron las cifras más altas, mientras que con la marrón, el 57% tuvieron absorciones superiores a 1,8 mg/día, y la mayoría de ellos, 86%, cuando tomaban la dieta blanca (Figura 25).

De acuerdo con Herbert (1987) y en función de los datos de composición de la dieta habitual señalados, la disponibilidad del hierro en ella se calificaría de alta o media-alta, por lo que podría absorberse en torno a un 23% del hierro hémico, y aproximadamente el 8% del hierro no hémico en situaciones de adecuados almacenes, lo que, según los contenidos de la dieta, supondría una absorción de 1,54 mg/día con una eficacia del 9,95%. La absorción media diaria realmente obtenida en los chicos y su eficacia se aproximaron, aunque no llegaron a alcanzar estos valores, por lo que, considerando las mayores demandas de la adolescencia, que acarrearían superiores absorciones, cabe pensar que la disponibilidad del hierro en la dieta habitual no era realmente tan alta, o que,

como se señalaba en el apartado del calcio, algunos chicos no se encontraban aún en el período de las máximas necesidades férricas que implica el estirón.

Figura 25.- **Diagrama de cajas y bigotes para la absorción de hierro tras el consumo de las distintas dietas**



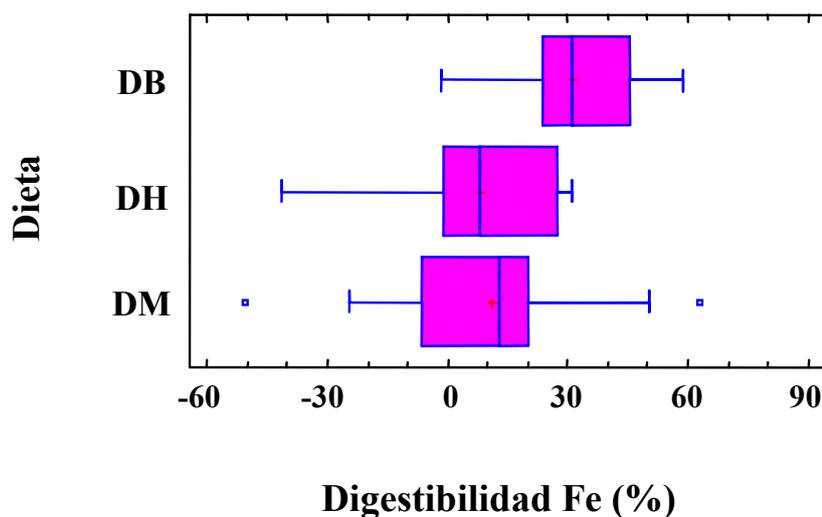
La eficacia media de absorción, mostrada en la dieta habitual, coincide exactamente con el 7,4% descrito en adultos consumiendo también su dieta habitual (Cook y col., 1991) o con el 7,5% de disponibilidad en chicos de 15 a 18 años que tomaban una dieta con un hierro considerado menos disponible; si bien no llegaban a alcanzar la eficacia media, 8,6%, mostrado en el total de esos chicos tomando dietas con distinta disponibilidad para el hierro (Viglietti y Skinner, 1987).

Diferentes resultados indican que la dieta habitual de los adolescentes de nuestro entorno, con una ingesta diaria de 15 mg Fe/día puede satisfacer las necesidades de hierro de casi todos los chicos (Fomon y col., 2003) y chicas (Ilich-Ernst y col., 1998) adolescentes. No obstante, algunos autores sugieren que suponerle a la dieta del adolescente una disponibilidad del 10% para el cálculo de las RDA (Nacional Research Council, 1989), tal vez resulte demasiada alta, dados los patrones dietéticos actuales de este colectivo, en los que, por ejemplo, el consumo de *snacks* es elevado y la disponibilidad del hierro en ellos baja, entre

3,6-5,9% (Viglietti y Skinner, 1987). Ciertamente, estas consideraciones están hechas sobre la base de la dieta de adolescentes americanos, cuyo consumo de *snacks* y comidas rápidas es más elevado (Kelner y Helmuth, 2003); sin embargo, puede ser oportuno tenerlas en cuenta, dadas las tendencias actuales de consumo que muestran nuestros adolescentes.

De hecho el valor medio de la disponibilidad del hierro en la dieta habitual no alcanzó el 10%, pero también es cierto que un 25% la utilizó con una eficacia igual o superior al 27%, por tanto, debido a la importancia de la regulación individual en función de las necesidades, de estos datos no se desprende directamente una eficacia insuficiente en la utilización del hierro (Figura 26).

Figura 26.- **Diagrama de cajas y bigotes de la digestibilidad del hierro tras el consumo de las distintas dietas**



No sabemos con certeza si los adolescentes no han absorbido más porque no lo necesitaban, porque a algunos de ellos la dieta no se lo ha permitido o, incluso, porque el binomio dieta-estadio biológico no ha desencadenado ese intenso crecimiento que implique mayores demandas. Conviene recordar que la edad media de los chicos al comienzo del estudio era 12,9 años y prácticamente la mitad estaban en los primeros estadios de Tanner y, por tanto, en un período

anterior al máximo estirón puberal, y a los mayores requerimientos de hierro, que según Hallberg y Hulthen (2002) se inician en torno a los 13 años.

De acuerdo con lo anterior se observó una correlación positiva entre la absorción del hierro, producida en el global de las dietas, con la talla y con el incremento de peso de los chicos, que indica el paralelo aumento de la absorción del micronutriente al desarrollo corporal.

Durante la intervención nutricional se incrementó la absorción del elemento, ya el 50% de los chicos con ambas dietas presentaba valores altos capaces de satisfacer, incluso en exceso, los elevados requerimientos de hierro absorbido señalados para la pubertad. No obstante, como media, sólo resultó significativamente más alta que la habitual, la absorción producida bajo el consumo de la dieta blanca, porque con la marrón todavía existía un grupo, cercano al 50%, con valores bajos de hierro absorbido.

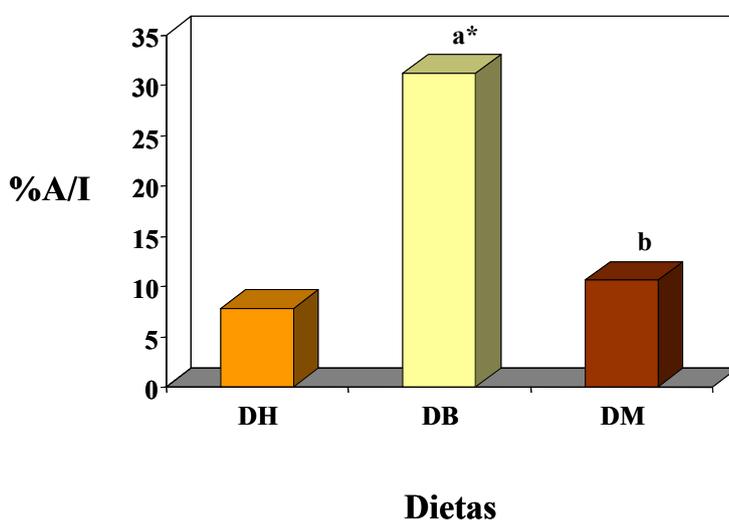
Los estudios de absorción a corto plazo sobreestiman las diferencias en la biodisponibilidad del hierro porque, con el tiempo, la adaptación biológica modula la respuesta inicial (Hunt y Roughead, 2000). Por lo tanto, puede pensarse que un consumo más prolongado de la dieta blanca reduciría sus elevadas tasas de absorción. No obstante, la bibliografía en situaciones de intenso anabolismo, que impliquen una acelerada hematopoyesis, describe valores de absorción y eficacias parecidos a los de este estudio. Así, en donantes de sangre con dieta marcada se señalan absorciones cercanas a los 5 mg/día con eficacias entre 10-60% (Hallberg y col., 1997). En mujeres gestantes se habla de 3-4 mg/día como absorción necesaria (Scholl, 2005) y en chicos entre 6 y 18 meses se observan valores de absorción del orden de los encontrados en este estudio (Tondeur y col., 2004).

Hay que tener presente que durante la adolescencia el hierro absorbido, además de compensar las pérdidas habituales, cifradas alrededor de 0,7 mg/día (Fomon y col., 2003), debe satisfacer las demandas del crecimiento, ya que durante esta época se incorpora alrededor del 45% del hierro total de la masa corporal libre de grasa; se incrementa la síntesis de hemoglobina para hacer frente a la mayor producción de eritrocitos, correspondiente a la expansión del volumen sanguíneo, así como para responder al aumento de las concentraciones de

hemoglobina (Hallberg y Hulthen, 2002), que se produce en esta etapa, asociado a los niveles de testosterona (Thompsen y col., 1986).

Cada kilogramo de masa corporal nueva contiene alrededor de 45-50 mg de hierro (Dallman, 1992) y ya que durante el período experimental los chicos incrementaron 1,5 kg de peso, esto supone retener unos 75 mg de hierro, solamente para dicho fin, que sin duda, pudieron satisfacerse ampliamente con las dietas experimentales.

Figura 27.- **Digestibilidad del hierro tras el consumo de las distintas dietas**



Se sabe que la absorción de hierro se incrementa cuando sus necesidades corporales aumentan por razones fisiológicas o patológicas. De los resultados recogidos en las Tablas 35 y 38 se desprende que la intervención nutricional, referido al consumo de la dieta blanca, condujo a una mejor utilización digestiva del hierro en términos absolutos y de eficacia (Figura 27), que, sin duda, ha sido posible por la crucial situación biológica en que se encontraban los chicos, de forma que una dieta más equilibrada ha propiciado una mejor expresión del crecimiento y desarrollo, como ya se comentó anteriormente al referirnos al calcio, y las mayores necesidades de hierro que implica este crecimiento acelerado han incrementado su absorción, lo que ha sido posible por la calidad de

la dieta experimental. El consumo de la dieta marrón, igualmente equilibrada, no ha supuesto, sin embargo, un estímulo tan positivo como la blanca para la absorción del hierro.

Si se tienen en cuenta los factores potenciadores e inhibidores de la absorción del hierro, puede hacerse un balance entre unos y otros en las tres dietas estudiadas:

El primer condicionante de la disponibilidad del elemento es la forma que adopta en los alimentos. El hierro hémico se absorbe en una proporción mucho mayor que el no hémico y es insensible a la mayor parte de los inhibidores dietéticos (Hallberg y col., 1997), de ahí que a este respecto la dieta habitual resultara más beneficiosa por su mayor proporción de hierro hémico, seguida por la blanca y, a continuación, la marrón. Sin embargo, esto tendría una segunda lectura y es que los factores moduladores actúan preferentemente sobre el hierro no hémico, por tanto, la abundancia de potenciadores de las dietas experimentales podrían ejercer mejor su efecto sobre el hierro de dichas dietas.

En opinión de Reddy y col. (2000), los dos principales potenciadores dietéticos de la absorción del hierro son, por este orden, el tejido animal y la vitamina C, mientras que para otros autores (Teucher y col., 2004; Tetens y col., 2005) el orden sería inverso.

Las dietas experimentales prácticamente doblaron el contenido de ácido ascórbico de la dieta habitual, lo que sin duda pudo estimular la absorción del elemento.

Los tejidos animales, carne o pescado, son potenciadores de la absorción del hierro total de la dieta; el número de raciones algo superior de la dieta habitual (2 raciones/día) resultaría positivo frente a 1,86 y 1,46 de la blanca y marrón, respectivamente. Además de que las diferencias no son grandes, sobre todo entre la blanca y la habitual, las tres dietas contenían proteína de tejido animal suficiente como para ejercer un efecto positivo en cualquiera de ellas, porque los aminoácidos y péptidos liberados de la digestión de unas dietas ricas en proteína, seguramente serían bastantes para unirse al hierro y mejorar su solubilidad (Baech y col., 2003a).

Además, el consumo de pescado, prácticamente ausente en la dieta habitual, pudo convertirse en otro factor positivo de la utilización digestiva del hierro durante la intervención nutricional, ya que aunque sólo el 2% del hierro está presente como hemoproteínas, el pescado es capaz de estimular la absorción del hierro inorgánico de forma similar a como lo hacen la carne o el hígado (Layrisse y col., 1974). Trabajos realizados en ratas por nuestro grupo de investigación, muestran que, cuando la dieta contiene sardina o atún, se produce un aumento significativo en la absorción y retención de hierro, comparado con la dieta control que contiene caseína como fuente proteica (García-Arias y col., 1994; Seiquer y col., 2002). Además, junto a la proteína, hay que tener en cuenta la influencia de la grasa en la absorción del hierro. Se ha sugerido que el ácido oleico, más abundante en las dietas experimentales, sobre todo en la marrón, promueve la absorción del elemento. Además, es precisamente la interacción entre la proteína y la grasa de la dieta lo que afecta a la absorción férrica en el lumen intestinal (Kapsokefalou y Miller, 1993, 1995), habiéndose demostrado, por ejemplo, que la combinación proteína de sardina-aceite de oliva tiene efectos enormemente beneficiosos en la biodisponibilidad del hierro dietético (Seiquer y col., 2002). Pensamos, por tanto, que la intervención nutricional pudo suponer una combinación idónea entre grasa y proteína que colaborara en el aumento observado en la digestibilidad y utilización del hierro de la dieta, muy especialmente en la marrón, por su mayor contenido en ácidos grasos monoinsaturados y de grasa total, que también puede estimular la absorción del elemento (Quian y Eaton, 1991).

Así mismo, la mayor contribución de las legumbres a la ingesta de hierro en las dietas experimentales resultaría positiva, ya que recientemente se ha demostrado que el hierro presente en ellas como ferritina es muy disponible, incluso en presencia de fitatos, debido a que esta forma férrica lo protegería de su unión en el lumen a los inhibidores (Davila-Hicks y col., 2004).

Durante el período en que se consumieron las dietas experimentales se observó un aumento significativo en la ingesta de vitaminas A, E y C que mejoró su adecuación dietética. Datos bibliográficos señalan que la suplementación de algunas de estas vitaminas o su mejor adecuación dietética, en caso de déficit,

favorece la absorción de hierro o su incorporación al tejido hematopoyético (Fishman, 2000; Walczyk y col., 2003).

Se elevó igualmente el aporte de diversas vitaminas del grupo B, llegando a alcanzar las recomendaciones en los casos en que eran insuficientes, como la vitamina B₆, cuyas deficiencias se han asociado a alteraciones en la utilización del hierro (Yu y Cho, 1990). Además, el más adecuado aporte del grupo B podría constituir un estímulo metabólico que favoreciera la hematopoyesis, lo cual, por vía indirecta, tendría efectos beneficiosos en la absorción férrica (Fishman, 2000).

Desde la perspectiva de los factores inhibidores de la absorción del hierro, las dietas experimentales presentaban también algunas modificaciones que habría que tener presentes.

Fitatos, oxalatos y polifenoles deprimen la absorción del hierro (Fairweather-Tait, 1996; Hallberg y Hulthen, 2000). La mayor ingesta de cereales, leguminosas y vegetales en general en las dietas experimentales, necesariamente incrementó el consumo de estos compuestos; sin embargo, es posible que su efecto negativo se haya contrarrestado, al menos en parte, ya que no se puso de manifiesto. Así, el efecto potenciador de la vitamina C sobre la absorción del hierro es más intenso en presencia de inhibidores. Se sabe, por ejemplo, que el consumo conjunto de legumbres o cereales con alimentos ricos en vitamina C compensan la influencia nociva de fitatos y polifenoles (Hallberg y Hulthen, 2000), probablemente por su capacidad para reducir y fijar al hierro, impidiendo así la formación de complejos férricos insolubles. En comidas con un contenido medio o bajo de fitatos se ha propuesto una relación molar ácido ascórbico:hierro de 2:1 como adecuada para promover y contrarrestar los efectos inhibitorios del ácido fítico. La relación ácido ascórbico:hierro de la dieta habitual era 1,1:1, pasando a 1,6:1 en la dieta marrón y a 2,3:1 en la blanca, que tendría una relación óptima. El incremento de dicha relación en ambas dietas experimentales seguramente pudo compensar la mayor ingesta de inhibidores, paralela a la elevación de las raciones de alimentos vegetales, algo superiores en la dieta blanca. Además, no puede olvidarse, en este contexto, el importante efecto de los tejidos animales, el llamado “factor carne” ya comentado, que, a su vez, protegería al hierro no hémico de sus inhibidores.

La fosfovitina de la yema del huevo deprime la absorción de hierro (Hallberg y Hulthen, 2000). Su consumo en estos experimentos correlacionó positivamente con la excreción fecal del nutriente, por eso, dado el menor consumo de huevos en la dieta blanca, resultaría más beneficiosa que la habitual o la marrón.

Podría pensarse que el mayor aporte de fibra de las dietas experimentales se convertiría en otro factor negativo. Sin embargo, los resultados experimentales son controvertidos, dependientes del tipo de fibra, de la cantidad y de las condiciones del ensayo (Idouraine y col., 1996), incluso se ha llegado a pensar que los efectos negativos de la fibra no corresponderían a ella misma, sino que serían achacables a los polifenoles que contiene (Bravo y col., 1995).

Como resultado global de los factores positivos y negativos en unas y otras dietas, parecen deducirse mejores características en las dietas experimentales para permitir una más efectiva utilización digestiva del elemento en respuesta a mayores necesidades.

Las características de las dietas blanca y marrón son muy parecidas, sin embargo, pudieron existir algunas pequeñas diferencias entre ellas. La primera resultaría más positiva por su mayor contenido en tejidos animales, vitamina E y vitamina C, aunque las diferencias de ingesta en esta última no fueron significativas. Algo más negativa resultaría por su mayor contenido en vegetales portadores de fitatos y oxalatos. La dieta marrón sería mejor a este respecto por su concentración de oleico y vitaminas B₂ y B₁₂.

A la vista de las grandes semejanzas en cuanto a potenciadores e inhibidores y de las menores diferencias entre ambas dietas, cabe preguntarse ¿esas pequeñas diferencias pueden responsabilizarse de una utilización digestiva del hierro tan distinta, o hay algo adicional en la dieta marrón que justifique la disparidad de ambas dietas?

b.3. Influencia del consumo de dietas ricas en productos pardos

La excreción fecal de hierro fue mayor con la dieta marrón que con la blanca, incluso el valor del percentil 25 de la marrón superó al 75 de la blanca (Tabla 34), lo que, sin duda, parece lógico por la superior ingesta. No obstante, un análisis pormenorizado de los datos sugiere un aumento adicional no dependiente de la

ingesta, que se apoya en la desaparición de la correlación existente entre ambos parámetros, en las tres dietas globalmente y en la dieta blanca, ausente en la marrón y en la habitual (Tabla 41), lo que lleva a pensar que en estas dos últimas dietas puede existir un factor o factores adicionales que influyen también la excreción.

Ya que los mismos chicos se alimentaron con dos dietas similares, la blanca y la marrón, ambas suficientes en hierro, deberían haberse producido absorciones, por lo menos muy próximas, para lo que la excreción fecal de la dieta marrón no podría sobrepasar los 14,3 mg de hierro/día. Respecto a este dato, en el experimento claramente existió un exceso de hierro fecal de unos 2,5 mg/día, que habla de una más ineficaz utilización del elemento, achacable al tipo de dieta, que se refleja en los menores valores de absorción y digestibilidad.

La cantidad de hierro absorbido diariamente por los chicos (Tabla 35), consumiendo la dieta marrón, resultó significativamente inferior, como media se redujo aproximadamente a la mitad y todos los percentiles fueron más pequeños, si bien las diferencias se redujeron mucho a partir del percentil 75. Así, en la dieta blanca el hierro se digirió con una eficacia muy alta, del orden de la descrita en situaciones de intensa eritropoyesis: mujeres con almacenes no repletos (Hunt, 2003b), conjunto de individuos adultos varones jóvenes que incluían donantes de sangre y no donantes (Hallberg y col., 1997), cuyos porcentajes de absorción incluso superaban a los obtenidos en nuestros ensayos, que, a su vez, tenían una eficacia de absorción mayor a la observada en jóvenes varones inmediatamente después de la adolescencia (Coudray y col., 1997).

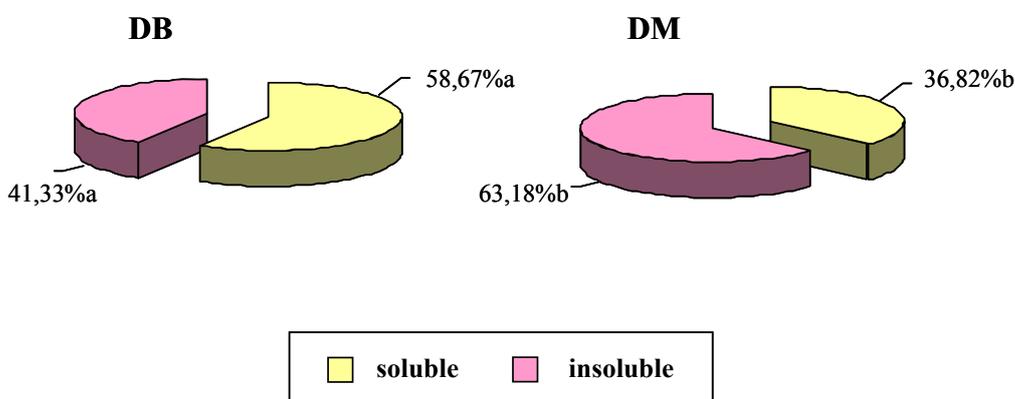
La dieta marrón, por su parte, se ajustó perfectamente al 10% de absorción asumido como usual en la dieta (Herbert, 1987; Tseng y col., 1997) y empleado para el cálculo de las RDA (National Research Council, 1989).

Para explicar estos resultados hay que señalar que, tras la digestión *in vitro* de las dietas, la fracción de hierro soluble fue significativamente inferior con la dieta marrón respecto de la blanca, porque seguramente existieron en la primera algunos cambios o compuestos que indujeron su insolubilización (Figura 28).

En primer lugar hay que destacar que el hierro hemo se desnaturaliza durante el cocinado (Schricker y Miller, 1983) en una proporción dependiente del tipo de

tratamiento (Martínez Torres y col., 1986), que se acentúa con el tiempo que dura el proceso. De ahí que bajo esta perspectiva, los tratamientos culinarios empleados en la preparación de los platos de la dieta blanca pudieran, en principio, resultar menos lesivos. Sin embargo, el mismo autor señala porcentajes de pérdidas distintas para filetes, hamburguesas, albóndigas, carne frita, etc., correspondiendo las menores pérdidas a la carne asada a la plancha, a la frita durante menos tiempo y a las hamburguesas. A la vista, por una parte, de que estos tratamientos fueran preferentes en la dieta marrón y, por otra, que Baech y col. (2003b) señalan que el calentamiento a 120°C, frente a temperaturas de cocinado más bajas, no empeora la absorción del hierro no hémico, no podemos afirmar que estos mecanismos fueran los únicos responsables de la menor absorción del hierro bajo el consumo de la dieta marrón.

Figura 28.- **Distribución del hierro en las fracciones soluble e insoluble tras la digestión in vitro de las dietas**



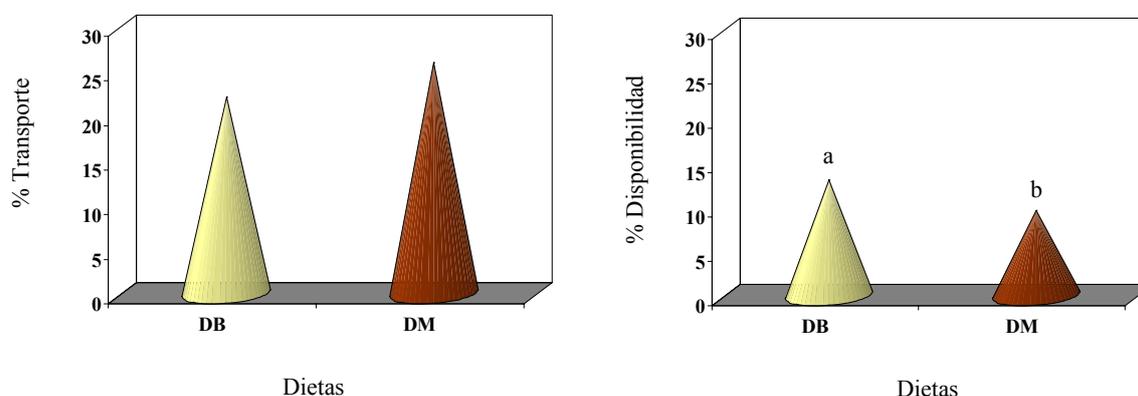
Por otra parte, varios estudios sugieren que los PRM poseen capacidad para formar complejos con el hierro, y precisamente en esta propiedad se basa, al menos, parte de su capacidad antioxidante (Yoshimura y col., 1997).

Homma y Murata (2001) y Wijewickreme y Kitts (1998) demostraron la capacidad de los pigmentos pardos del café para fijar al hierro. Más recientemente Morales y col. (2005) pusieron de manifiesto esta misma propiedad en melanoidinas derivadas del café, cerveza y vino dulce. Habiéndose

señalado igualmente en derivados de otros alimentos y, sobre todo, en sistemas modelo, que parecen tener mayor poder quelante, especialmente las fracciones de más alto peso molecular (Yoshimura y col., 1997). En PRM derivados del calentamiento de glucosa-lisina, nuestro grupo demostró algunos aspectos de su capacidad antioxidante así como su poder quelante del hierro (Seiquer y col., 2006c). A la vez se demostró que la presencia de estos derivados en soluciones de hierro, en las condiciones propias del intestino, inducía la insolubilización del elemento, tanto más cuanto mayor había sido el tiempo de calentamiento de la muestra y, por lo tanto, su intensidad de pardeamiento (Delgado-Andrade y col., 2004).

Es posible que la presencia de estos compuestos más abundantes en la dieta marrón, como se indica en la Tabla 10, sobre todo la de los más avanzados, de mayor peso molecular, haya contribuido a fijar parte del hierro de los alimentos en el lumen, favoreciendo su insolubilización, lo que explicaría su incremento en las heces y la consecuente disminución de su absorción.

Figura 29.- Transporte del hierro soluble de las dietas en células Caco-2



* Los resultados se refieren a los obtenidos para la superficie del pocillo (4,7 cm²)

Los ensayos de transporte de hierro en Caco-2 demuestran que el proceso no parece alterarse por los contenidos de PRM en las dietas (Tabla 45) ya que el porcentaje de transporte del hierro en la dieta marrón no varió significativamente

respecto del de la blanca, incluso tendió a incrementarse (Figura 29). Sin embargo, la disponibilidad del hierro en la dieta marrón disminuyó como consecuencia de la menor solubilidad del micronutriente en los productos de la digestión.

Parece evidente que el hierro en la dieta marrón fuera menos disponible, sin embargo, cuantitativamente las diferencias no eran tan grandes, y en la dieta marrón debió quedar una cantidad de hierro disponible suficiente como para que un 25% (percentil 75) de los chicos lo utilizara con una eficacia considerable. Aunque las necesidades de hierro son el principal modulador de su absorción, establecidas éstas, la disponibilidad del hierro en la dieta puede condicionar la absorción. Así, en mujeres con los almacenes de hierro no cubiertos, el porcentaje de absorción del hierro oscila entre 30-35% con dietas de alta disponibilidad a entre 1-8% con dietas de baja disponibilidad (Hunt, 2003b).

Ensayos biológicos de absorción de hierro en ratas alimentadas con dietas adicionadas de PRM, procedentes de sistemas modelo aminoácido-azúcar (Mahalko y col., 1984; O'Brien y col., 1994; Delgado-Andrade y col., 2000), o cuya proteína había sido calentada en presencia de azúcares (Johnson, 1991; Aspe, 1992) discrepan en sus resultados, aunque predominan los que no muestran variaciones en la utilización digestiva del hierro. Sin embargo, cuando los estudios se realizan sobre una dieta entera parecen observarse deterioros: Sarriá y Vaquero (2004), alimentando a ratas con fórmulas infantiles, en cuya esterilización se había desarrollado la reacción de Maillard, observaron una disminución de la digestibilidad del hierro respecto a las fórmulas que no habían sufrido pardeamiento. En la misma línea, Miller (1983) describió hace mucho tiempo algún deterioro en la utilización del hierro en dietas calentadas.

No conocemos datos en humanos que relacionen los productos de la reacción de Maillard en la dieta y la absorción de hierro, solamente un trabajo de Johnson y col. (1983) en el que no obtuvieron diferencias en la absorción de hierro por el consumo de copos de maíz tostados frente a sémola de maíz.

En un sentido opuesto podrían citarse los resultados que señalan un efecto depresor del chocolate, alimento con elevado contenido de PRM (Oak y col.,

2002) sobre la absorción del mineral, aunque los autores siempre atribuyen este efecto depresor a los polifenoles constituyentes (Hurrell y col., 1999).

Como se ve, se trata siempre de alimentos aislados, nunca de comidas ni dietas completas, de ahí que probablemente el trabajo recogido en esta memoria represente una primera aportación al estudio de la influencia de los PRM de la dieta sobre la absorción del hierro.

c) Utilización metabólica

c.1. Hierro en la orina

La eliminación preferencial del hierro se realiza por vía fecal y la orina sólo constituye, en condiciones normales, una vía minoritaria incluso inferior a la descamación cutánea (Forellat Barrios y col., 2000). Así, la concentración de hierro en la orina de los chicos con su dieta habitual era baja, pero incluso se redujo casi a la mitad en las dietas experimentales (Tabla 35), sin que este efecto pueda atribuirse a mayores volúmenes de orina, como ya se indicó.

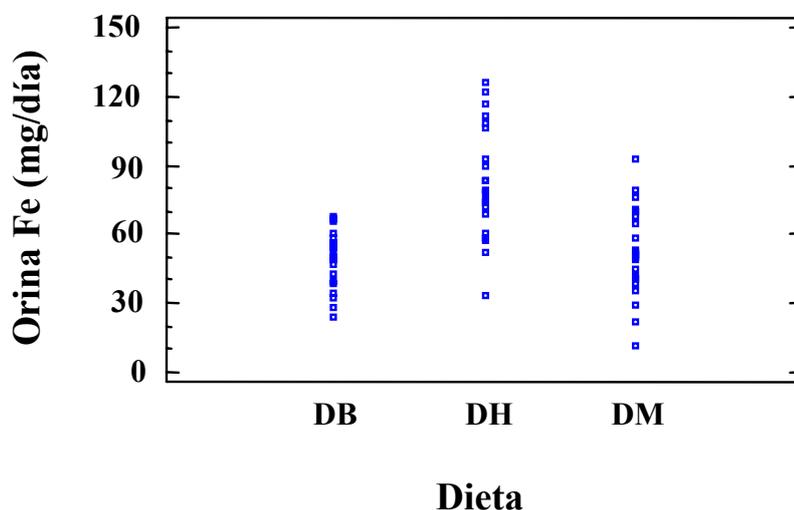
La excreción diaria de hierro por esta vía durante el consumo de la dieta habitual se encuentra entre los rangos que la bibliografía describe para la población adulta (Bothwell y col., 1979) y adolescente (Greger y col., 1978).

A pesar de la disminución que se produjo en el hierro urinario durante el consumo de las dietas experimentales (Figura 30), Powell y col. (1999) señalan excreciones de esta cuantía en varones adultos. Los valores de todos los percentiles, como excreción diaria y referida al peso, fueron más pequeños, de forma que si la eliminación diaria del elemento se considera casi como pérdidas obligatorias, hay que pensar que la situación introducida por las dietas experimentales tendió a minimizarlas.

El hierro urinario estuvo positivamente correlacionado en el conjunto global de las dietas con la ingesta de carnes, y aunque esto en principio se podría achacar al efecto positivo que la carne induce sobre la absorción, ambos parámetros no alcanzaron una relación directa significativa. Hay que tener presente que el principal determinante de la absorción del elemento son las necesidades, que se imponen por encima de cualquier factor potenciador. A su

vez, la excreción férrica se correlacionó significativa y negativamente con el consumo de pescados, lácteos, cereales, legumbres y frutas, así como con la cantidad absorbida del propio elemento. Parecería que durante la intervención nutricional, la situación anabólica ha generado mayores necesidades de hierro que, a su vez, han propiciado mayor absorción y, de alguna forma, parece que también se intenta minimizar sus pérdidas. Así, se apunta una disminución en el hierro urinario paralela al crecimiento, parecida a la descrita en el calcio.

Figura 30.- **Dispersión de la excreción urinaria de hierro en las distintas dietas**

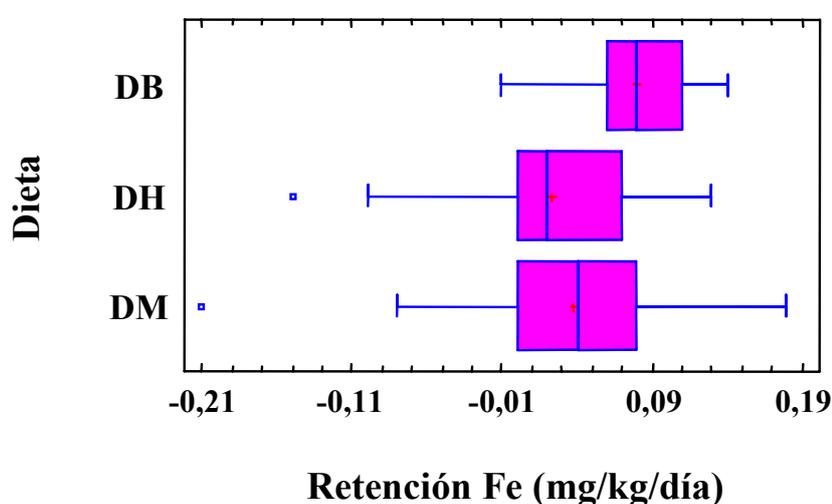


c.2. Retención. Parámetros sanguíneos

La regulación del metabolismo del hierro se ejerce fundamentalmente a nivel digestivo, a través de las células de la mucosa intestinal (Gavin y col., 1994), para que sólo penetre en el organismo la cantidad del elemento necesaria, determinada por las necesidades hematopoyéticas o según el estado de repleción de sus almacenes. De ahí que el hierro absorbido tienda a conservarse y que su eliminación por otras vías, distintas de la fecal, sea escasa, representando pérdidas inevitables y poco más. Así, el hierro urinario es una fracción muy pequeña del hierro absorbido, que casi se solapa con su retención corporal, tanto

que hablar de absorción y balance es prácticamente sinónimo en el caso del hierro, por lo que los comentarios realizados para la absorción serían aplicables también a la retención del micronutriente, y todo ello nos llevaría a decir que la intervención nutricional, pero sobre todo el consumo de la dieta blanca dentro de ella, mejoró significativamente el balance de hierro y su biodisponibilidad.

Figura 31.- **Diagrama de cajas y bigotes de la retención de hierro tras el consumo de las distintas dietas**



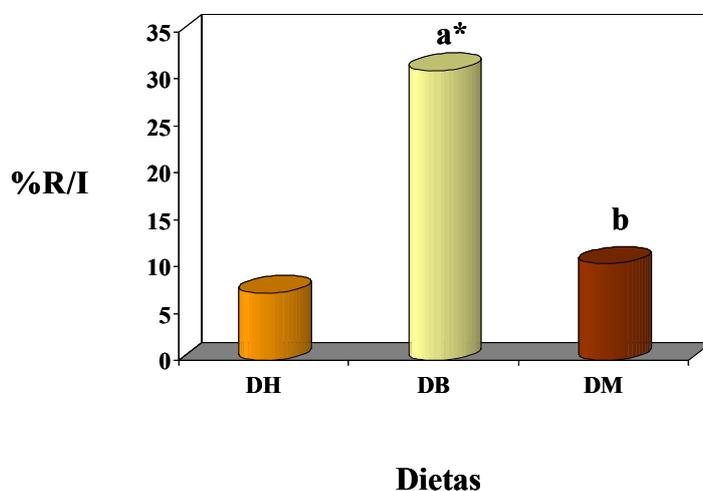
Somos conscientes de que el valor absoluto de retención diaria puede estar sobreestimado, por la propia imprecisión inherente a la técnica, y porque ciertas pérdidas obligadas, sudor, descamación, etc., no se han considerado, aunque esto afectaría a las tres situaciones dietéticas. Por tanto, aun aplicando el porcentaje de reducción oportuno, seguiría observándose mayor retención de hierro con la dieta blanca. Sus valores en todos los percentiles fueron superiores a los de la dieta habitual y a los de la marrón, pero sobre todo las máximas diferencias aparecían en los percentiles 25 y 50 (Figura 31).

Mientras que con la dieta blanca ya el percentil 25 mostraba cifras de retención capaces de responder al estirón puberal, más de 1,5 mg/día (Fomon y

col., 2003) o incluso 3 mg/día (Ilich-Ernst y col., 1998), en la marrón eso no se conseguía hasta el percentil 50 y en la habitual por encima de él.

El hierro en la dieta blanca se ha utilizado más eficazmente que en la marrón o en la habitual, mostrándose el elemento más biodisponible en su seno y, por tanto, la dieta más adecuada para la utilización del hierro durante la adolescencia (Figura 32).

Figura 22.- Biodisponibilidad del hierro tras el consumo de las distintas dietas



En términos generales los parámetros hematológicos se hallaban dentro de los amplios rangos de normalidad señalados por Galdó y Cruz (1995) para adolescentes varones de 12-14 años (Tabla 32). No obstante, los valores de hemoglobina, descritos en diferentes estudios con adolescentes, frecuentemente no superan los 13,9 g/dl (Durá Travé y col., 2002; Weon Choi, 2003; Keskin y col., 2005), por lo que los 15 g/dl de nuestros chicos quedarían por encima, sólo superados por adolescentes costarricenses algo mayores (Monge y col., 1996). Algo parecido podría decirse del número de hematíes, mientras que el hematocrito se hallaba comprendido entre los valores que citan los autores anteriores.

El resultado analítico del hierro sérico varía en cierta medida en función de la técnica empleada en su determinación. Oscila entre 50 y 150 µg/dl para la

población en general, con valores más altos en los varones (Sepeap, 2007) y, según Galdó y Cruz (1995), entre 72-186 $\mu\text{g}/\text{dl}$ en varones de más de 10 años, por lo que las cifras de los chicos del estudio, aunque comprendidas en ese rango, resultan más bajas que las de la mayor parte de los valores señalados en adolescentes sanos, que frecuentemente se sitúan por encima de 100 $\mu\text{g}/\text{dl}$ (Monge y col., 1996; Urbano y col., 2002; Weon Choi, 2003). Aún así, Keskin y col. (2005) señalan cifras similares a las de nuestros sujetos en adolescentes varones de la misma edad. Puede añadirse que en situaciones de déficit de hierro, sus concentraciones séricas disminuyen hasta valores del elemento mucho más bajos que los observados en estos ensayos (Anttila y Siimes, 1996).

El consumo de las dietas experimentales no alteró los distintos índices señalados, de forma que siguieron estando dentro de los valores normales de su grupo de población.

Por su parte, la ferritina se hallaba entre las cifras intermedias más frecuentes en adolescentes varones de edades similares (Anttila y Siimes, 1996; Urbano y col., 2002; Keskin y col., 2005). Tampoco en este caso existieron diferencias significativas entre las tres situaciones dietéticas, si bien los mayores valores numéricos de todos los percentiles se produjeron bajo el consumo de la dieta blanca y los menores con la dieta habitual. Si se tiene en cuenta que la ferritina representa una forma de almacén de hierro, su estabilidad llama la atención a la luz de los cambios descritos en la absorción y el balance. En individuos adultos normales los niveles de ferritina sérica correlacionan negativamente con la absorción del hierro (Finch, 1994). Sin embargo, esta correlación puede perderse en ciertas situaciones que implican intensa eritropoyesis (Finch, 1994) o durante el intenso crecimiento del primer año de vida (Lind y col., 2004).

Se han propuesto varios reguladores para la absorción del hierro (Roy y Enns, 2000). La absorción incrementa en función de las necesidades orgánicas del elemento, determinadas fundamentalmente por el estado de repleción de los almacenes, que indicaría la ferritina sérica, y por el grado de hematopoyesis, que es un regulador de mayor capacidad, que actúa priorizando el aporte para la producción de glóbulos rojos. En opinión de Lind y col. (2004), este regulador es

prominente durante el primer año de vida, un período de intenso crecimiento y acelerada hematopoyesis.

Durante la pubertad del varón, la eritropoyesis se hace especialmente activa, incrementando 2-3 veces su valor respecto a períodos anteriores (Dallman, 1992). El estirón puberal supone un acelerado incremento de peso y talla, lo que implica una elevación del volumen sanguíneo, ya que el desarrollo muscular, consecuente a la secreción de testosterona, exige elevación de células sanguíneas. Todo ello supone aumento de la hemoglobina circulante y requiere mayores cantidades de hierro para producirla, de modo que también en esta etapa, como en la infancia, la eritropoyesis puede ser un regulador importante de la absorción.

En chicos adolescentes se ha demostrado una fuerte correlación positiva entre la producción de eritrocitos y la velocidad de crecimiento, ganancia de talla y de peso, mientras que estos parámetros antropométricos no correlacionaban con el hierro almacenado (Anttila y col., 1997). Tampoco nosotros observamos correlación alguna de la ferritina con el peso, la talla o sus incrementos, mientras que en nuestros chicos la correlación aparecía entre los hematíes y el peso en el conjunto de las dietas y bajo el consumo de la marrón, y entre la hemoglobina y el hematocrito con la talla, en todas las situaciones dietéticas excepto con la dieta marrón.

Hay que recordar que las variaciones antropométricas ocurridos durante el período experimental son, como ya dijimos, propias del estirón puberal y, por tanto, que el hierro absorbido y retenido debe haberse canalizado hacia la producción de hemoglobina para los eritrocitos, más que hacia su almacenamiento en forma de ferritina, igual que ocurre en la primera infancia (Lind y col., 2004). En este sentido, Hunt y Roughead, 2000) señalan que el porcentaje de incorporación del hierro absorbido a los eritrocitos es bastante superior en varones jóvenes que en adultos. De hecho, en estos ensayos, el hierro absorbido y retenido y su eficacia correlacionaron positivamente con la concentración de eritrocitos, globalmente y en la dieta marrón, y con la de hemoglobina y hematocrito en la dieta blanca. A su vez, en la dieta marrón también correlacionaron positivamente con la transferrina.

En conjunto todos estos datos parecen indicar que el hierro absorbido se está destinando al incremento del volumen sanguíneo que implica el crecimiento de la masa corporal. La construcción de 1 kg de masa durante la pubertad requiere entre 45-50 mg de hierro (Dallman, 1992). Si consideramos que durante el período experimental los chicos incrementaron su peso en 1,5 kg, necesitarían retener para este fin entre 67,5-75 mg de hierro. Si de los valores medios de retención diaria, producidos con las dietas habitual, blanca y marrón, descontamos las pérdidas obligatorias, unos 0,7 mg/día (Fomon y col., 2003), obtenemos unos valores de 0,6; 3,68 y 1,23 mg de hierro al día respectivamente, cifras que multiplicadas por el tiempo que duró el consumo de cada dieta: 14 días la blanca y la marrón y 40 la habitual durante el período de limpieza, supone unos 92 mg de hierro retenido: $14 \times 3,68 + 40 \times 0,6 + 14 \times 1,23 = 92$ mg.

Aunque no se trata de un cálculo exacto, lo cual resulta imposible, la cifra obtenida parece bastante próxima a los 75 mg estimados en la bibliografía y, por tanto, suficiente para llevar a cabo el crecimiento tisular producido, e incluso para permitir un pequeño almacenamiento.

De acuerdo con los cálculos anteriores, si los sujetos hubieran consumido durante todo el período (68 días) cada una de las tres dietas, puede observarse que la habitual no le habría proporcionado suficiente hierro para el incremento de masa corporal experimentado, la marrón lo habría satisfecho y la blanca lo aportaría en exceso, si bien al tratarse de un consumo continuado, la adaptación, como indican Hunt y Roughead (2000), seguramente, a la larga, modularía la tasa de absorción.

No obstante, centrándonos exclusivamente en el período de consumo de la dieta blanca, de acuerdo con la retención de hierro, y estimando el incremento de peso correspondiente a esos 14 días en unos 309 g, pueden realizarse los mismos cálculos anteriores, de los que se deduce que los chicos retuvieron en ese período 52 mg de hierro, de los cuales entre 14-16 mg se requerían para la construcción del tejido, el resto, unos 36 mg, debieron almacenarse. Cada $\mu\text{g/l}$ de ferritina supone el almacenamiento de 8-10 mg de hierro (Finch, 1994), por lo que con el hierro sobrante podrían formarse entre 3,5-4,5 $\mu\text{g/l}$ de ferritina. Valores inferiores y, por tanto, dentro del margen de incremento observado en la ferritina, que

fueron 7 $\mu\text{g/l}$ respecto de la dieta habitual y 4 $\mu\text{g/l}$ respecto de la marrón, si bien, en ningún caso, las diferencias fueron significativas.

Aún así puede destacarse que dos chicos que al inicio se hallaban al borde de la deficiencia, con valores de ferritina entre 12 y 20 $\mu\text{g/l}$ (Dallman y col., 1996), la incrementaron bajo el consumo de la dieta marrón y, sobre todo, con la blanca, por lo que en estos casos, cuyos almacenes no eran idóneos, el efecto beneficioso de la dieta se hizo evidente.

c.3. Influencia del consumo de dietas ricas en productos pardos

Excreción urinaria

Se ha señalado que por su capacidad quelante los PRM podrían unir minerales y así incrementar su eliminación urinaria en forma de quelatos. Alternativamente se ha sugerido también que estos compuestos podrían influenciar los procesos de reabsorción renal (Navarro, 2003). Este efecto se ha relacionado preferentemente con los elementos traza, aunque los resultados son controvertidos y dependientes del diseño experimental, vía de administración, elemento concreto, etc. Precisamente el hierro no suele ser uno de los que frecuentemente se observe incrementado en la orina.

En estos experimentos la concentración urinaria de hierro aumentó ligera pero significativamente en el período de la dieta marrón respecto del de la dieta blanca. Podría parecer que se trataba de un efecto ligado a los PRM, sin embargo, el hierro excretado diariamente no varió por el consumo de ambas dietas ni tampoco al expresarlo en función del peso de los sujetos, de ahí que las diferencias en concentración deban relacionarse con la disminución del volumen de orina excretado con la dieta marrón.

Son escasos los datos bibliográficos referidos concretamente a la relación PRM-hierro urinario (O'Brien y col., 1994; Delgado-Andrade y col., 2000) y sólo se ha descrito hiperecreción férrica en un caso en que la caseína, dañada por la reacción de Maillard, constituía la fuente proteica de la dieta de ratas, sin que ello llegara a alterar significativamente su retención (Aspe, 1992). En los ensayos de esta memoria, la reacción de Maillard se desarrolló en alimentos constituyentes

de la dieta lo que, sin duda, alteró su proteína (Seiquer y col., 2006b) pero aún así los productos pardos no modificaron la eliminación de hierro.

Retención

Parece que los derivados de Maillard alteran la retención del hierro por cambios previos en su digestibilidad. Así, el balance del micronutriente se deprime en ratas alimentadas con fórmulas infantiles en cuya esterilización tuvo lugar la reacción de Maillard (Sarriá y Vaquero, 2004), o con dietas cuya proteína era caseína calentada con glucosa, fructosa y aceite de oliva (Aspe, 1992). Lo mismo ocurrió en estos ensayos; la disminución de la absorción del hierro, consecuente al consumo de la dieta marrón, conllevó una reducción de su retención corporal, por lo que aparentemente el efecto primordial de los PRM se ejercería a nivel digestivo. No obstante, no se pueden descartar efectos metabólicos adicionales, por ejemplo consecuentes al deterioro en la utilización de la proteína. El consumo de la dieta marrón frente a la blanca disminuyó la proteína absorbida por los adolescentes y su digestibilidad, y tendió a deprimir la retención del nitrógeno (Seiquer y col., 2006b). Dada la interrelación en el destino metabólico de hierro y proteína, puede suponerse que una menos eficaz utilización proteica pudiera coadyuvar al deterioro de la biodisponibilidad del elemento, que ha tenido lugar.

A pesar del menor hierro retenido con la dieta marrón, la cantidad incorporada al organismo, como ya se ha dicho, prácticamente podía responder a las necesidades del crecimiento efectuadas en el período y los parámetros indicativos del estatus férrico no cambiaron en los chicos. Así, no se observaron diferencias significativas en los valores medios de ferritina sérica, sin embargo, una visión pormenorizada e individual de los datos pone de manifiesto que, tras el paso de la dieta habitual a la blanca, un 80% de los sujetos incrementaron sus cifras, disminuyéndolas posteriormente el mismo porcentaje de chicos al consumir la dieta marrón. Por el contrario, en el grupo que consumió la dieta marrón en primer lugar, 60% de ellos tuvieron cifras más bajas que las iniciales de ferritina, incrementándolas, ese mismo porcentaje, tras consumir la dieta blanca.

De todo lo expuesto se deduce que la dieta blanca parece más idónea para la utilización del hierro durante la adolescencia y que el consumo de dietas equilibradas pero ricas en productos pardos deteriora dicha utilización, y aunque en estos ensayos el hierro disponible se acerque incluso al necesario para el crecimiento, el efecto ha de tenerse en cuenta, dadas las tendencias actuales de consumo de los adolescentes, inclinadas hacia la ingesta de *snacks* y comidas rápidas, en detrimento de las tradicionales, lo que produce dietas desequilibradas y conlleva el consumo de alimentos muy energéticos, con baja densidad de nutrientes y ricas en PRM. El conjunto de los tres factores agravaría, incluso, el efecto de los productos pardos.

Resumen y Conclusiones

Resumen

La adolescencia es un período de especial interés en nutrición, debido al aumento de las necesidades corporales como consecuencia del crecimiento y desarrollo. Sin embargo, los hábitos alimentarios de los adolescentes se inclinan frecuentemente hacia el consumo de dietas monótonas, poco equilibradas y con un alto contenido en alimentos de baja densidad de nutrientes, lejos de lo que podríamos considerar el modelo de la dieta Mediterránea.

El objeto del presente trabajo fue conocer la utilización del hierro y del calcio en la dieta que habitualmente consumen los adolescentes y ver en qué medida una dieta más equilibrada, variada y ajustada a sus necesidades, modificaba la digestibilidad y el metabolismo de dichos nutrientes y, por tanto, afectaba el estatus nutritivo de los sujetos. Paralelamente se analizó si el mayor o menor consumo de productos de la reacción de Maillard en esa dieta, fruto de diferentes tratamientos culinarios usados en los alimentos, incidía sobre la utilización y metabolismo de dichos minerales.

Se realizó un estudio de tipo longitudinal cruzado en un grupo de adolescentes previamente seleccionados, en los que se comparó la utilización del hierro y del calcio durante el consumo de su dieta habitual y tras someterlos a una intervención nutricional, en la que se proporcionaron dos dietas más equilibradas y variadas: la dieta blanca, pobre en productos de la reacción de Maillard, y la dieta marrón, rica en dichos productos, realizándose balances de hierro y calcio. Para ello, las dietas se consumieron durante períodos de 14 días de duración, separados por un período de limpieza de 40 días en el que los sujetos tomaron su dieta habitual. Se controló el consumo de alimentos y se analizaron las distintas dietas para conocer la ingesta de nutrientes, fundamentalmente de hierro y calcio. Al final de cada período de ingesta, tal como se describe en Material y Métodos, se recogieron heces y orina y se

tomaron muestras de sangre, para determinar la excreción de los minerales y para el estudio de los parámetros relacionados con el estatus férrico y con el metabolismo del calcio. Se midió y se pesó a los chicos antes y después del período experimental con el fin de controlar cambios antropométricos.

El estudio in vivo realizado en los adolescentes se complementó con un ensayo in vitro de solubilidad de los minerales en las dietas blanca y marrón tras someterlas a una digestión in vitro, y se estudió la absorción intestinal de los mismos utilizando la línea celular Caco-2.

De los resultados obtenidos se concluye:

Conclusiones

Primera.- Las dietas experimentales, con una ingesta de calcio similar a la de la dieta habitual, pero más variadas, mejor ajustadas a las necesidades de los adolescentes y basadas en los patrones de la dieta Mediterránea, mejoran la retención corporal del calcio y parecen favorecer el desarrollo óseo.

Por otra parte, los resultados sugieren que una ingesta de 1000 mg/día de calcio, en este período de la vida, parece inferior al valor umbral, por lo que se suman a la idea de elevar la ingesta cálcica en la adolescencia como forma de mejorar la adquisición del mineral óseo y prevenir riesgos futuros.

Segunda.- El mayor consumo de productos de la reacción de Maillard en esa dieta equilibrada no modifica el calcio absorbido, retenido o su biodisponibilidad. Sin embargo, no se puede descartar la posibilidad de algún cambio metabólico, ya que la menor excreción de desoxipiridinolina que se produce, puede indicar disminución del remodelado óseo en una etapa de intenso crecimiento. Las posibles consecuencias de este hecho sobre la salud merecen ser estudiadas en profundidad.

Tercera.- Frente a la dieta que habitualmente consumen los adolescentes, una dieta más variada, que aporte suficiente cantidad de hierro y, a la vez, se acerque a las características de la dieta Mediterránea, incrementa la absorción del hierro y resulta más adecuada para su utilización durante la adolescencia. Sin embargo, al elevar en ella la concentración de productos de la reacción de Maillard, especialmente la de los más avanzados, disminuye la cantidad del hierro absorbido y su biodisponibilidad, aunque sin llegar a alterar los parámetros indicativos del estatus férrico.

CONCLUSIÓN GENERAL

La calidad y el ajuste de la dieta son fundamentales para una óptima utilización del calcio y del hierro en la adolescencia. El consumo de productos de la reacción de Maillard debe vigilarse a través de la elección de los alimentos y de su forma de preparación, para evitar una ingesta excesiva que pueda deprimir la biodisponibilidad de algunos nutrientes, entre los que se incluye el hierro.

Este efecto podría tener especial importancia en dietas monótonas, poco equilibradas, resultantes de las preferencias actuales de consumo de los adolescentes. De ahí la importancia de orientar los hábitos alimentarios del colectivo hacia los patrones tradicionales, más saludables, de la dieta Mediterránea.

Bibliografía

Bibliografía

- Abraham, E.; Tsai, C.; Abraham, A.; Swamy, M. (1990). Formation of early and advanced glycation products of lens crystallins with erythrose, ribose and glucose. En P.A. Finot, H.U. Aeschbacher, R.F. Hurrell, R. Liardon (Eds.), *Maillard reaction in Food Processing, Human Nutrition and Physiology*. Basel, Switzerland: Birkhäuser Verlag.
- Abrams, S.A.; Griffin, I.J.; Hawthorne, K.M.; Liang, L.; Gunn, S.K.; Darlington, G.; Ellis, K.J. (2005). A combination of prebiotic short- and long-chain inulin-type fructans enhances calcium absorption and bone mineralization in young adolescents. *The American Journal of Clinical Nutrition* 82, 471-476.
- Abrams, S.A.; Grusak, M.A.; Staff, J.; O'Brien, K.O. (1997). Calcium and magnesium balance in 9-14-y-old children. *The American Journal of Clinical Nutrition* 66, 1172-1177.
- Abu-Dweih, B.M.; Tukan, S.K.; Takruri, H.R. (2000). The effect of browning intensity on the protein quality of qurshallah. *Internation Journal of Food Science and Nutrition* 6, 483-488.
- Adrian, J. (1974). Nutritional and Physiological consequences of the Maillard Reaction. *World review of nutrition and dietetics* 19, 71-122.
- Adrian, J. (1982). The Maillard reaction. En M. Rechcigl (Ed.), *Handbook of nutritive value of processed food. Vol. 1. Food for human use*. Florida: CRC Press.
- Adrian, J.; Boisselot-Lefebvres, J. (1977). Interrelations entre les produits de la reaction de Maillard et le metabolisme calcique. *Cahiers de la Nutrition et Dietetique* 12, 233-234.

- Adrian, J.; Susbielle, H. (1975). La reaction de Maillard. X. Effects des premelanoidinas sur la reproduction chez le rat. *Annales de la Nutrition et de l'alimentation* 29, 151-158.
- Ait Ameer, L.; Zude, M.; Trystram, G.; Birlouez-Aragon, I. (2004). Hydroxymethylfurfural: An indicative parameter of heat damage in cereal products. *Czech Journal of Food Sciences* 22, 99-101.
- Alais, C.; Linden, G. (1990). *Manual de Bioquímica de los Alimentos*. Barcelona: Masson.
- Alimentación sana (2007). Cuidado con el fast food. Disponible en: <http://www.alimentacion-sana.com.ar/informaciones/novedades/cuidado%201.htm>
- Allen, L.H. (1982). Calcium bioavailability and absorption: a review. *The American Journal of Clinical Nutrition* 35, 783-808.
- Alonso de la Torre, S.R.; Aldea Segura, L.; Cavia Camarero, M.M.; Moreno Sancho, G. (2005). Evaluación del consumo de golosinas en un grupo de adolescentes. *Nutrición Hospitalaria* XX, 70-71.
- Alonso, M.; Redondo, P.; Redondo, D.; de la Cruz, S.; de Mateo, B.; Martínez, M.J. (2006). Obesidad infantil: ¿sabemos si ha aumentado realmente la prevalencia? *Public Health Nutrition* 9, 113.
- Álvarez-Hernández, X.; Nichols, G.M.; Glass, J. (1991). Caco-2 cell line: a system for studying intestinal iron transport across epithelial cell monolayers. *Biochimica et Biophysica Acta* 1970, 205-208.
- Amadori, M. (1925). Products of condensation between glucose and p-phenetidine *Atti della Accademia Nazionale dei Lincei* 2, 337-345.
- American Academy of Pediatrics. Committee on Public Education. (2001). Children, adolescents, and televisión. *Pediatrics* 107, 423-426.

- Ames, J.M. (1998). Applications of the Maillard reaction in the food industry. *Food Chemistry* 62, 431-439.
- Amorim Cruz, J. (2000). Dietary habits and nutritional status of adolescents over Europe-Southern Europe. *European Journal of Clinical Nutrition* 54, S29-S35.
- Anderson, J.J.B. (2000). The important role of physical activity in skeletal development: how exercise may counter low calcium intake. *The American Journal of Clinical Nutrition* 71, 1384-1385.
- Anderson, J.J.B.; Garner, S.C.G. (1996). Dietary issues of calcium and phosphorus. En J.B. John (Ed.), *Calcium and Phosphorus in Health and Disease*. Florida: CRC Press.
- Andrieux, C.; Sacquet, E.; Gueguen, L. (1980). Interactions between Maillard's reaction products, the microflora of the digestive tract and mineral metabolism. *Reproduction, Nutrition, Development* 20, 1061-1069.
- Andrieux, C.; Saquet, E. (1984). Effects of Maillard's reaction products on apparent mineral absorption in different parts of the digestive tract. The role of microflora. *Reproduction, Nutrition, Development* 23, 379-386.
- Anet, E.F.L.J. (1959). Chemistry of Non-enzymic Browning. VII. Crystalline Di-D-fructose-glycine and some related compounds. *Australian Journal of Chemistry* 12, 280-287.
- Anttila, R.; Cook, J.D.; Siimes, M.A. (1997). Body iron stores in relation to growth and pubertal maturation in healthy boys. *British Journal of Haematology* 96, 12-18.
- Anttila, R.; Siimes, M.A. (1996). Serum transferrin and ferritin in pubertal boys: relations to body growth, pubertal stage, erythropoiesis, and iron deficiency. *The American Journal of Clinical Nutrition* 63, 179-183.
- Appel, L.; Moore, T.; Obarzanek, E.; Vollmer, W.M.; Svetkey, L.P.; Sacks, F.M.; Bray, G.A.; Vogt, T.M.; Cutler, J.A.; Windhauser, M.M.; Lin, P.H.; Naranja,

- N. (1997). A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. *The New England Journal of Medicine* 336, 117-124.
- Apriyantono, A.; Ames, J.M. (1993). Xylose-lysine model system. The effect of pH on the volatile reaction products. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 61, 477-484.
- Aranceta Bartrina, J. (2006). Prevención del sobrepeso y de la obesidad desde una perspectiva de Salud Pública. *Public Health Nutrition* 9, 13.
- Aranceta Bartrina, J.; Serra Majem, L.; Ribas Barba, L.; Pérez Rodrigo, C. (2000). El desayuno e la población infantil y juvenil española. En L. Serra Majem, J. Aranceta Bartrina (Eds.), *Desayuno y equilibrio alimentario* (cap. 5). Barcelona: Masson.
- Aranda, O.; Llopis, J. (1993). Minerals. En Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos (Ed.), *Nutrición y Dietética: Aspectos Sanitarios*, Madrid: Editorial Trivium.
- Arija, V.; Salas, J.; Fernández-Ballart, J.; Cucó, G.; Martí-Henneberg, C. (1996). Consumo, hábitos alimentarios y estado nutricional de la población de Reus (IX). Evolución del consumo de alimentos, de su participación en la ingesta de energía y nutrientes y de su relación con el nivel socioeconómico y cultural entre 1983 y 1993. *Medicina Clínica* 106, 174-179.
- Arvidsson, P.; Van Boekel, M.A.J.S.; Skog, K.; Jagerstad, M. (1998). Formation of mutagenic Maillard reaction products. En J. O'Brien, H.E. Nursten, M.J.C. Crabbe, J.M. Ames (Eds.), *The Maillard Reaction in Foods and Medicine*. Cambridge, UK : Royal Society of Chemistry.
- Ashoor, S.H.; Zent, J.B. (1984). Maillard Browning of common amino acids and sugars. *Journal of Food Science* 49, 1206-1207.
- Aspe, T. (1992). Influencia del tratamiento térmico de la proteína dietética sobre la biodisponibilidad de algunos minerales. Tesis Doctoral. Universidad Complutense. Madrid.

- Aspe, T.; Vaquero, M.P.; Navarro, M.P. (1993). Changes in speciation and utilization on calcium in rats by the presence of untreated or heated casein, separately or in combination with glucosa and fructosa. En J.F. Diehl (Ed.), *Bioavailability'93. Nutritional, chemical and food processing implications on nutrient availability, Part 2*. Germany, 68.
- Babiker, E.F.; Matsudome, N.; Kato, A. (1998). Masking of antigen structure of soy-bean protein by conjugation with polysaccharide and cross-linkage with microbial transglutaminase. *Nahrung* 42, 158-159.
- Bach Faig, A.; Roman, B.; Carrasco, J.L.; Bertomeu, I.; Serra-Majem, L. (2006). Adhesión a la dieta Mediterránea en España. Evolución en los últimos 20 años. *Public Health Nutrition* 9, 133.
- Baech, S.B.; Hansen, M.; Bukhave, K.; Jensen, M.; Sorensen, S.S.; Kristensen, L.; Purslow, P.P.; Skibsted, L.H.; Sandstrom, B. (2003a). Nonheme iron absorption from a phytate rich meal is increased by the addition of small amounts of pork meat. *The American Journal of Clinical Nutrition* 77, 173-179.
- Baech, S.B.; Hansen, M.; Bukhave, K.; Kristensen, L.; Jensen, M.; Sorensen, S.S.; Purslow, P.P.; Skibsted, L.H.; Sandstrom, B. (2003b). Increasing the cooking temperature of meat does not affect nonheme iron absorption from a phytate-rich meal in women. *The Journal of Nutrition* 133, 94-97.
- Bailey, D.A.; Martin, A.D.; McKay, H.A.; Whiting, S.; Mirwald, R. (2000). Calcium accretion in girls and boys during puberty: a longitudinal analysis. *Journal of Bone and Mineral Research* 15, 2245-2250.
- Bailey, D.A.; McKay, H.A.; Mirwald, R.L. (1999). A six year longitudinal study of the relationship of physical activity to bone mineral accrual in growing children. *Journal of Bone and Mineral Research* 14, 1672-1680.
- Baisier, W.M.; Labuza, T.P. (1992). Maillard browning kinetics in a liquid model system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40, 707-713.

- Ballabriga, A.; Carrascosa, A. (2006). Nutrición en la adolescencia. En A. Ballabriga, A. Carrascosa (Eds.), *Nutrición en la infancia y adolescencia*. 3ª edición. Tomo I. Madrid: Ergon.
- Ballot, D.; Baynes, R.D.; Bothwell, T.H.; Gillooly, M.; Macfarlane, B.J.; MacPhail, A.P.; Lyons, G.; Derman, D.P.; Bezwoda, W.R.; Torrance, J.D.; Bothwell, J.E. (1987). The effect of fruit juices and fruits on the absorption of iron from a rice meal. *British Journal of Nutrition* 57, 331-343.
- Baltes, W. (1982). Chemical changes in food by the Maillard reaction. *Food Chemistry* 9, 59-73.
- Barrett-Connor, E.; Chang, J.C.; Edelstein, S.L. (1994). Coffee-associated osteoporosis offset by daily milk consumption. The Rancho Bernardo Study. *Journal of the American Medical Association* 271, 280-283.
- Barzel, U.S.; Massey, L.K. (1998). Excess dietary protein can adversely affect bone. *The Journal of Nutrition* 128, 1051-1053.
- Bass, J.K.; Chan, G.M. (2006). Calcium nutrition and metabolism during infancy. *Nutrition* 22, 1057-1066.
- Baynes, R.D.; Bothwell, T.H.; Bezwoda, W.R.; MacPhail, A.P.; Derman, D.P. (1987). Relationship between absorption of inorganic and food iron in field studies. *Annals of Nutrition and Metabolism* 31, 109-116.
- Beard, J.; Green, W.; Miller, L.; Finch, C.A. (1984). Effect of iron deficiency anemia on hormone levels and thermoregulation during cold exposure. *American Journal of Physiology* 247, 114-119.
- Beard, J.L.; Connor, J.R. (2003). Iron status and neural functioning. *Annual Review of Nutrition* 23, 41-58.
- Beard, J.L.; Dawson, H.D. (1997). Iron. En B.L. O'Dell, R.A. Sunde (Eds.), *Handbook of nutritionally essential mineral elements*. University of Missouri. Columbia, Missouri: Marcel Dekker.

- Bellaton, C.; Roche, C.; Remy, C.; Pansu, D. (1992). Absorption du calcium. Données physiologiques recentes. Consequences dietetiques. *Gastroenterologie Clinique et Biologique* 16, 239-247.
- Benevenga, N.J.; Steele, D. (1984). Adverse effects of excessive consumption of amino acids. *Annual Review of Nutrition* 4, 157-181.
- Berrocal, R.; Chanton, S.; Juillerat, M.A.; Pavillard, B.; Scherz, J.C.; Jost, R. (1989). Tryptic phosphopeptides from whole casein. II. Physicochemical properties related to the solubilization of calcium. *The Journal of Dairy Research* 56, 335-341.
- Bethene Ervin, R.; Wang, C.H.; Wright, J.D.; Kennedy-Stephenson, J. (2004). Dietary intake of selected minerals for the United States Population: 1999-2000. *Advance Data* 27, 1-5.
- Bjorck, I.; Noguchi, A.; Asp, N.G.; Cheftel, J.C.; Dahlqvist, A. (1983). Protein nutritional value of a biscuit processed by extrusion cooking: effects on available lysine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 31, 488-492.
- Björn-Rasmussen, E.; Hallberg, L.; Isaksson, B.; Arvidsson, B. (1974). Food iron absorption in man: application of the two-pool extrinsic tag method to measure heme and non-heme iron absorption from the whole diet. *The Journal of Clinical Investigation* 52, 247-255.
- Bloem, M.W.; Wendel, M.; Van Agtmaal, E.J.; Seek, A.J.; Saowakontha, S.; Schreurs, W.H.P. (1990). Vitamin A intervention: short-term effects of a single, oral, massive dose on iron metabolism. *The American Journal of Clinical Nutrition* 51, 76-79.
- Bogen, K.T. (1994). Cancer potencies of heterocyclic amines found in cooked foods. *Food and Chemical Toxicology* 32, 505-515.
- Bollen, A.M. (2000). A prospective longitudinal study of urinary excretion of a bone resorption marker in adolescents. *Annals of Human Biology* 27, 199-211.

- Bonjour, J.P. (2005). Dietary protein: an essential nutrient for bone health. *Journal of the American College of Nutrition* 24, 526-536.
- Boot, A.M.; de Ridder, M.A.J.; Pols, H.A.P.; Krenning, E.P.; de Muinck Keiker-Schrama, S.M.P.F. (1997). Bone mineral density in children and adolescents: relation to puberty, calcium intake, and physical activity. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 82, 57-62.
- Borrego, R.; Sousa, J.; Costa, A.; Franco, S.; Mendes, L. (2006). Are Portuguese children nutritionally healthful? *Public Health Nutrition* 9, 71-72.
- Bosscher, D.; Van Caillie-Bertrand, M.; Van Cauwenbergh, R.; Deelstra, H. (2003). Availabilities of calcium, iron, and zinc from dairy infant formulas is affected by soluble dietary fibers and modified starch fractions. *Nutrition* 19, 641-645.
- Bothwell, T.H.; Baynes, R.D.; MacFarlane, B.J.; MacPhail, A.P. (1989). Nutritional iron requirements and food iron absorption. *Journal of International Medicine* 226, 357-365.
- Bothwell, T.H.; Charlton, R.W.; Cook, J.D.; Finch, C.A. (1979). Iron metabolism in man. London: Blackwell Scientific.
- Bowman, S.A. (2002). Beverage choices of young females: changes and impact on nutrient intakes. *Journal of the American Dietetic Association* 102, 1234-1239.
- Bowman, S.A.; Gortmaker, S.L.; Ebbeling, C.B.; Pereira, M.A.; Ludwig, D.S. (2004). Effects of fast food consumption on energy intake and diet quality among children in a national household survey. *Pediatrics* 113, 112-118.
- Boynton-Jarrett, R.; Thomas, T.N.; Peterson, K.E.; Wiecha, J.; Sobol, A.M.; Gortmaker, S.L. (2003). Impact of television viewing patterns on fruit and vegetable consumption among adolescents. *Pediatrics* 112, 1321-1326.
- Branca, F.; Robins, S.P.; Ferro-Luzzi, A.; Golden, M.H.N. (1992). Bone turnover in malnourished children. *Lancet* 340, 1493-1496.

- Branca, F.; Valtueña, S.; Golden, M.H.N.; Robins, S. (2002). Urinary collagen cross-links as biochemical markers of growth: An evaluation of biological variables. *Annals of Nutrition and Metabolism* 46, 80-87.
- Bravo, L.; Abia, R.; Goni, I.; Saura-Calixto, F. (1995). Possible common properties of dietary fiber constituents and polyphenols. *European Journal of Clinical Nutrition*, 49, 211-214.
- Bredie, W.L.P.; Mottram, D.S.; Hasell, G.M.; Guy, R.C.E. (1998). Sensory characterisation of the aromas generated in extruded maize and wheat flour. *Journal of Cereal Science* 28, 97-106.
- Bristow, M.; Isaacs, N.S. (1999). The effect of high pressure on the formation of volatile products in a model Maillard reaction. *Journal of the Chemical Society* 2, 2213-2218.
- British Nutrition Foundation (1995). Iron: Nutritional and physiological significance. London: British Nutrition Foundation.
- Bronner, F. (1987). Intestinal calcium absorption: mechanisms and applications. *The Journal of Nutrition* 117, 1347-1352.
- Bronner, F. (1992). Current concepts of calcium absorption: an overview. *The Journal of Nutrition* 122, 641-643.
- Brunette, M.; Mailloux, J.; Lajeneusse, D. (1992). Calcium transport through the luminal membrana of the distal tubule: Interrelationship with sodium. *Kidney International* 41, 281-286.
- Bryant, R.J.; Cadogan, J.; Weaver, C.M. (1999). The new dietary reference intakes for calcium: implications for osteoporosis. *Journal of the American College of Nutrition* 18, 406-412.
- Bucala, R.; Makita, E.; Koschinsky, T.; Cerami, A.; Vassara, H. (1994). Advanced Glycosilation of LDL: role in oxidative modification and diabetic complications. En T.P. Labuza, G.A. Reineccius, V. Monnier, J. O'Brien, J.

- Baynes (Eds.), *Maillard reactions in chemistry, food and health*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, Thomas Graham House, Science Park.
- Buckler, J.M.H. (1979). A reference manual of growth and development. Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- Buckley, D.J.; Morrissey, P.A.; Gray, J.I.; Fooladi, M.H.; Ku, P.K. (1996). Influence of dietary vitamin E on the oxidative stability and quality of pigment. *Journal of Animal Science* 73, 3122-3130.
- Bueno-Lozano, G.; Pérez-González, J.M.; Bueno, M. (1999). Alimentación del adolescente. En *Nutrición en pediatría*. Madrid: Ergon.
- Burks, A.W.; Williams, L.W.; Thresher, W.; Connaughton, C.; Cockrell, G.; Helm, R.M. (1992). Allergenicity of peanut and soybean extracts altered by chemical or thermal denaturalization in patients with atopic dermatitis and positive food challenges. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 90, 889-897.
- Burton, H. (1988). Properties of UHT-processed milk. En H. Burton (Ed.), *Ultra-high temperature processing of milk and milk products*. London: Elsevier.
- Buzina, R.; Bates, C.J.; Van der Beek, J. (1989). Workshop on functional significance of mild-to-moderate malnutrition. *The American Journal of Clinical Nutrition* 50, 172-176.
- Cadogan, J.; Eastell, R.; Jones, N.; Barker, M.E. (1997). Milk intake and bone mineral acquisition in adolescent girls: randomised, controlled intervention trial. *British Medical Journal* 315, 1255-1260.
- Cámara, F.; Amaro, M.A.; Barberá, R.; Clemente, G. (2005). Bioaccessibility of minerals in school meals: Comparison between dialysis and solubility methods. *Food Chemistry* 92, 481-489.
- Carpenter, C.E.; Mahoney, A.W. (1992). Contribution of heme and nonheme iron to human nutrition. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 31, 333-367.

- Cashman, K.D.; Flynn, A. (1999). Optimal nutrition: calcium, magnesium and phosphorus. *Proceedings of the Nutrition Society* 58, 477-487.
- Cathro, J.; William, M. (1994). Children's eating habits in Europe. An in-depth consumer and market analysis. Countries: UK, France, Germany, Spain and Italy (cross-country comparisons). Volume I: quantitative research. Leatherhead: Leatherhead Food Research Association.
- Center for Disease Control and Prevention (2002). Iron deficiency. United States, 1999-2000. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 51, 897-899.
- Charlton, R.W.; Bothwell, T.H. (1983). Iron absorption. *Annual Review of Medicine* 34, 55-68.
- Cheftel, J.C.; Cheftel, H. (1976). Introduction a la Biochimie et a la Technologie des Aliments. Vol I. Paris: PIC, Geneve et Librairie Lavoisier.
- Chelius, H.H.; Hubsted, W.; Ruppin, E. (1976). Are products of the Maillard Reaction in babyfood toxic for the newborn? *Maandschrift voor kindergeneeskunde* 124, 748-750.
- Chiechi, L.M.; Micheli, L. (2005). Utility of dietary phytoestrogens in preventing postmenopausal osteoporosis. *Current Topics in Nutraceutical Research* 3, 15-28.
- Chuyen, N.V.; Ijichi, K.; Umetsu, H.; Moteki, K. (1998). Antioxidative Properties of products from Amino Acids or Peptides in the Reaction with Glucose. En F. Shahidi, C.T. Ho, N. Van Chuyen (Eds.), *Process-induced Chemical Changes in Food*. New York: Plenum Press.
- Chuyen, N.V.; Utsunomiya, N.; Kato, H. (1991). Nutritional and physiological effects of casein modified by glucose under various conditions on growing adults rats. *Agricultural and Biological Chemistry* 55, 659-664.
- Cifuentes, M.; Morano, A.B.; Chowdhury, H.A.; Shapses, S.A. (2002). Energy restriction reduces fractional calcium absorption in mature obese and lean rats. *The Journal of Nutrition* 132, 2660-2666.

- Clydesdale, F.M. (1988). Mineral interactions in foods. En C.E. Bodwell, J.W. Erdman (Eds.), *Nutrient Interactions*. New York: Marcel Dekker.
- Cohn, S.H.; Varsky, D.; Yasumura, S.; Sawitsky, A.; Zanzi, I.; Vaswani, A.; Ellis, K.J. (1980). Compartmental body composition based on total body nitrogen, potassium, and calcium. *American Journal of Physiology: Endocrinology Metabolism* 239, 524-530.
- Cole, S.K.; Billewicz, W.Z.; Thompson, A.M. (1971). Sources of variation in menstrual blood loss. *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology* 78, 933-939.
- Colette, C.; Monnier, L.; Pares Herbute, N.; Blotman, F.; Mirouze, J. (1987). Calcium absorption in corticoid treated subjects effects of a single oral dose of calcitriol. *Hormone and Metabolic Research* 19, 335-338.
- Committee on Nutrition. American Academy of Pediatrics (1999). Calcium requirements of infants, children and adolescents. *Pediatrics* 104, 1152-1157.
- Conrad, M.E. (1987). Iron absorption. En L.R. Johnson (Ed.), *Physiology of the Gastrointestinal Tract. 2d ed.* New York: Raven Press.
- Conrad, M.E. (1993). Regulation of iron absorption. En A.S. Prasad (Ed.), *Essential and Toxic Trace Elements in Human Disease: An Update. 2d ed.* New York: Wiley-Liss.
- Conrad, M.E.; Umbreit, J.N. (2000). Iron absorption and transport- An update. *American Journal of Hematology* 64, 287-298.
- Cook, J.; Monsen, E.R. (1976). Food iron absorption in human subjects. III. Comparison of the effect of animal proteins on nonheme iron absorption. *The American Journal of Clinical Nutrition* 29, 859-867.
- Cook, J.D.; Dassenko, S.A.; Lynch, S.R. (1991). Assessment o the role of nonheme-iron availability in iron balance. *The American Journal of Clinical Nutrition* 54, 717-722.

- Cook, J.D.; Reddy, M.B.; Hurrell, R.F. (1995). The effect of red and white wines on nonheme iron absorption in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition* 61, 800-804.
- Corzo, N.; Delgado, T.; Troyano, E.; Olano, A. (1994). Ratio of lactulose to furosine as indicator of quality of commercial milks. *Journal of Food Protection* 57, 737-739.
- Coudray, C.; Bellanger, J.; Castiglia-Delavaud, C.; Rémésy, C.; Vermorel, M.; Rayssiguier, Y. (1997). Effect of soluble or partly soluble dietary fibres supplementation on absorption and balance of calcium, magnesium, iron and zinc in healthy young men. *European Journal of Clinical Nutrition* 51, 375-380.
- Cremer, D.R.; Eichner, K. (2000). The reaction kinetics for the formation of Strecker aldehydes in low moisture model systems and in plant powders. *Food Chemistry* 71, 37-43.
- Croset, M.; Black, J.M.; Swanson, J.E.; Kinsella, J.E. (1989). Effects of dietary n-3 polyunsaturated fatty acids on phospholipids composition and calcium transport in mouse cardiac sarcoplasmic reticulum. *Lipids* 24, 278-285.
- Cross, A.T.; Babicz, D.; Cushman, L.F. (1994). Snacking patterns among 1.800 adults and children. *Journal of the American Dietetic Association* 94, 1398-1403.
- Csgastronomía (2007). Disponible en: <http://www.csgastronomia.edu.mx/>
- Cvijetic, S., Colic Baric, J.; Bolanca, S.; Jusesa, V.; Dekanic Ozegovic, D. (2003). Ultrasound bone measurement in children and adolescents correlation with nutrition, puberty, anthropometry, and physical activity. *Journal of Clinical Epidemiology* 56, 591-597.
- Dallman, P.R. (1987). Iron deficiency and the immune response. *The American Journal of Clinical Nutrition* 46, 329-334.

- Dallman, P.R. (1992). Changing iron needs from birth through adolescence. En S.J. Fomon, S. Zlotkin(Eds.), *Nutritional anemias*, 1ª ed. New York: Raven Press.
- Dallman, P.R.; Looker, A.C.; Johnson, C.L.; Carroll, M. (1996). Influence of age on laboratory criteria for the diagnosis of iron deficiency anemia and iron deficiency in infants and children. En N.G. Asp, L. Hallberg (Eds.), *Iron Nutrition in Health and Disease*. London: John Libby Co.
- Damore, D.; Robbins, L.; Karl, T. (2007). The effects of an educational program on the calcium intake of junior high school students. *The Internet Journal of Pediatrics and Neonatology* 6.
- Davidsson, L.; Dimitrion, T.; Walczyk, T.; Hurrell, R.F. (2001). Iron absorption from experimental infant formulas based on pea (*Pisum sativum*)-protein isolate: the effect of phytic acid and ascorbic acid. *British Journal of Nutrition* 85, 59-63.
- Davidsson, L.; Walczyk, T.; Morris, A.; Hurrell, R.F. (1998). Influence of acid ascorbic on iron absorption from an iron fortified, chocolate flavored milk drink in Jamaican children. *The American Journal of Clinical Nutrition* 67, 873-877.
- Davila-Hicks, P.; Theil, E.C.; Lönnerdal, B. (2004). Iron in ferritin or in salts (ferrous sulfate) is equally bioavailable in nonanemic women. *The American Journal of Clinical Nutrition* 80, 936-40.
- De Bry, L. (1994). Anthropological implications of the Maillard reaction: An insight. En T.P. Labuza, G.A. Reineccius, V.M. Monnier, J. O'Brien, J.W. Baynes (Eds.), *Maillard Reaction in Chemistry, Food and Health*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry.
- De Cos Blanco, A.; Loria, V.; Lourenco, T.; Marín, M.; Gómez Candela, C.; Martínez, J.R. (2006). Análisis de los datos de consumo de refrescos, chucherías, bollos y aperitivos en población escolar, obtenidos durante la 4ª

- edición del día nacional de la nutrición (DNN) 2005. *Public Health Nutrition* 9, 116.
- De Kok, P.M.T.; Rosing, E.A.E. (1994). Reactivity of peptides in the Maillard reaction. En T.H. Parliament, M.J. Morello, R.J. MacGorrin (Eds.), *Thermally generated flavors, Maillard, microwave and extrusion processes*. ACS symposium series 543. Washington, D.C.: American Chemical Society.
- De Rufino Rivas, P.; Redondo Figuero, C.; Amigo Lanza, T.; González-Lamuño, D.; García Fuentes, M.; grupo AVENA. (2005). Desayuno y almuerzo de los adolescentes escolarizados de Santander. *Nutrición Hospitalaria* 20, 217-222.
- De Rufino, P.M.; Muñoz, P.; Gómez, E. (1999). Frecuencia de consumo de alimentos en los adolescentes escolarizados de Cantabria. Comparación con el documento de consenso Guías Alimentarias para la población española. *Gaceta Sanitaria* 6, 449-455.
- De-Lara, R.; Gilliland, S.E. (1985). Growth inhibition of microorganisms in refrigerated milk by added Maillard reaction products. *Journal of Food Protection* 48, 138-141.
- Delgado-Andrade, C. (2002). Reacción de Maillard: Influencia sobre la biodisponibilidad mineral. Tesis Doctoral. Universidad de Granada.
- Delgado-Andrade, C.; Rufián-Henares, J.A.; Morales, F.J. (2005a). Assessing the antioxidant activity of melanoidins from coffee brews by different antioxidant methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 7832-7836.
- Delgado-Andrade, C.; Seiquer, I.; Navarro, M.P. (2001). Cambios en la solubilidad del Fe y el Zn debidos a la presencia de mezclas de glucosa-lisina calentadas. *Nutrición Hospitalaria* XVI, 203.
- Delgado-Andrade, C.; Seiquer, I.; Navarro, M.P. (2005b). Comparative effects of glucose-lysine versus glucose-methionine Maillard reaction products consumption: in vitro and in vivo calcium availability. *Molecular Nutrition and Food Research* 49, 679-684.

- Delgado-Andrade, C.; Seiquer, I.; Navarro, M.P. (2005c). Repercusiones del consumo de mezclas calentadas de glucosa-lisina y glucosa-metionina sobre el calcio óseo. *Nutrición Hospitalaria* XX, 70-76.
- Delgado-Andrade, C.; Seiquer, I.; Navarro, M.P. (2006). Changes in calcium absorption and subsequent tissue distribution induced by Maillard reaction products: in vitro and in vivo assays. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86, 271-278.
- Delgado-Andrade, C.; Seiquer, I.; Navarro, M.P.; Morales, F.J. (2007). Maillard reaction indicators in diets usually consumed by adolescent population. *Molecular Nutrition and Food Research* 51, 341-351.
- Delgado-Andrade, C.; Seiquer, I.; Nieto, R.; Navarro, M.P. (2004). Effects of heated glucosa-lysine and glucosa-methionine model-systems on mineral solubility. *Food Chemistry* 87, 329-337.
- Delgado-Andrade, C.; Seiquer, I.; Valverde, A.; Navarro, M.P. (2000). Iron metabolism in rats fed diets containing heated glucosa-lysine. *The Proceedings of the Nutrition Society* 59, 133.
- Department de Sanitat i Seguretat Social (1996). Avaluació de l'estat nutricional de la població catalana (1992-1993). Barcelona.
- Department of Community Services (1989). National Dietary Survey of Children aged 10-15 years, No.2 Nutritional Intake. Canberra: Australian Government Publishing Services.
- Deshpande, S.S.; Nielsen, J. (1987). In vitro enzymatic hydrolysis of phaseolin, the mayor storage protein of *Phaseolus Vulgaris*. *Journal of Food Science* 52, 1326-1329.
- Dexter, L. (1996). Intestinal bioavailability and absorption of calcium. En J.B. John (Ed.), *Calcium and Phosphorus in Health and Disease*. Florida: CRC Press.

- Dietary Reference Intakes (2001). Recommendations to prevent and control iron deficiency in the United States. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 1998. Washington, DC: Institute of Medicine. National Academy Press.
- Dunn, J.A.; Dyer, D.G.; Knecht, K.J.; Thorpe, S.R.; McCance, D.R.; Bailie, K.; Silvestri, G.; Lyons, T.J.; Baynes, J.W. (1990). Accumulation of Maillard reaction products in tissue proteins. En P.A. Finot, H.V. Aeschbacher, R.F. Hurrell, R. Liardon (Eds.), *Maillard reaction in Food Processing. Human Nutrition and Physiology*. Basel, Switzerland: Birkhäuser Verlag.
- Durá Travé, T.; Aguirre Abad, P.; Mauleón Rosquil, C.; Oteiza Flores, M.S.; Díaz Velaz, L. (2002). Iron deficiency in adolescents 10-14 years of age. *Atención Primaria* 29, 72-78.
- Dworschak, E. (1980). Nonenzyme browning and its effect on protein nutrition. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 13, 1-40.
- Dworschak, E.; Orsi, F. (1977). Study into the Maillard reaction occurring between methionine and tryptophan on the one hand and glucose on the other. I. Studies in aqueous solutions *Acta Alimentaria* 6, 59.
- Eaton, S.B.; Konner, M. (1985). Paleolithic nutrition. A consideration of its nature and current implications. *The New England Journal of Medicine* 312, 283-289.
- Einarsson, H.; Eklund, T.; Nes, I.F. (1988). Inhibitory mechanisms of Maillard reaction products. *Microbios* 53, 27-36.
- Einarsson, H.; Snygg, B.G.; Eriksson, C. (1983). Inhibition of bacterial growth by Maillard reaction products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 31, 1043-1047.
- Ellis, G.P. (1959). The Maillard Reaction, En M.L. Wolfram (Ed.), *Advances in Carbohydrate Chemistry vol. XIV*. New York: Elsevier Science.

- Elmadfa, I.; Weichselbaum, E. (2005). Energy and nutrient intake in the European Union. En I. Elmadfa (Ed.), *European Nutrition and Health Report 2004. Forum of Nutrition* 58, 19-46.
- Erba, D.; Ciappellano, S.; Testolin, G. (2001). Effect of caseinphosphopeptides on inhibition of calcium intestinal absorption due to phosphate. *Nutrition Research* 21, 649-656.
- Erba, D.; Ciappellano, S.; Testolin, G. (2002). Effect of the ratio of casein phosphopeptides to calcium (w/w) on passive calcium transport in the distal small intestine of rats. *Nutrition* 18, 743-746.
- Erbersdobler, H.F. (1983). Protein utilization and amino acid availability in milk product after technological treatment. En W. Kaufman (Ed.), *Role of milk proteins in human nutrition*. Gelsenkirchen-Buer, West Germany: Verlag Th. Mann K.G.
- Erbersdobler, H.F. (1989). Protein reactions during food processing and storage: their relevance to human nutrition. *Bibliotheca Nutritio et Dieta* 43, 140-55.
- Erbersdobler, H.F.; Buhl, K.; Klusman, U. (1990). Balance studies with glycosilated proteins on human volunteers. En P.A. Finot, H.V. Aeshbacher, K.F. Hurell, K. Liardon (Ed.), *The Maillard Reaction in Food Processing, Human Nutrition and Physiology*. Basel, Switzerland: Birkhäuser Verlag.
- Erbersdobler, H.F.; Faist, V. (2001). Metabolic transit of Amadori products. *Nahrung* 45, 177-181.
- Erbersdobler, H.F.; Hupe, A. (1991). Determination of lysine damage and calculation of lysine bioavailability in several processed foods. *Zeitschrift für Ernährungswissenschaft* 30, 46-49.
- Erbersdobler, H.F.; Somoza, V. (2007). Forty years of furosine-Fourty years of using Maillard reaction products as indicators of the nutritional quality of foods. *Molecular Nutrition and Food Research* 51, 423-430.

- Espósito, F.; Morisco, F.; Verde, V.; Ritieni, A.; Alezio, A.; Caporaso, N.; Fogliano, V. (2003) Moderate coffee consumption increases plasma glutathione but not homocysteine in healthy subjects. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* 17, 595–601.
- Estruch, R.; Martínez-González, M.A.; Corella, D.; Salas-Salvadó, J.; Ruiz-Gutiérrez, V.; Covas, M.I.; Fiol, M.; Gómez-Gracia, E.; López-Sabater, M.C.; Vinyoles, E.; Arós, F.; Conde, M.; Lahoz, C.; Lapetra, J.; Sáez, G.; Ros, E. (2006). Efectos de una dieta tipo mediterráneo sobre los factores de riesgo vascular: un estudio aleatorizado de intervención. *Public Health Nutrition* 9, 58.
- Estudio CAENPE: Consumo de alimentos y estado nutricional de la población escolar de la Comunidad de Madrid (1994). Madrid: Grupo CAENPE. Ministerio de Sanidad y Consumo. Secretaría General Técnica.
- Evans, M.D.; Cronin, F.J. (1986). Diets of School-Age Children and Teenagers. *Family Economic Review* 3, 14-21.
- Failde, I.; Zara, J.A.; Ruiz, E.; Novillos, J.P. (1997). Valoración de la Alimentación de los Escolares de una población de la Sierra de Cádiz (Ubrique). *Medicina Clínica* 108, 254-258.
- Fairweather-Tait S. (1996). Iron requirement and prevalence of iron deficiency in adolescents. An overview. En L. Hallberg, N.G. Asp (Eds.), *Iron nutrition in health and diseases*. Eastleigh, UK: John Libbey and Co.
- Faist, V.; Erbersdobler, H.F. (2001). Metabolic transit and in vivo effects of melanoidins and precursor compounds deriving from the Maillard reaction. *Annals of Nutrition and Metabolism* 45, 1-12.
- FAO/OMS. Food and Agriculture Organization/World Health Organization of the United Nations. Preparation and use of food-based-dietary-guidelines (1996). Report on a joint FAO/WHO consultation. Nicosia, Cypress. WHO/NUT/96.6

- Fayle, S.E.; Gerrard, J.A. (2002). The Maillard reaction. Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry.
- Feather, M.S. (1981). Amine-assisted sugar dehydration reactions. *Progress in Food and Nutrition Science* 5, 37-45.
- Fernández San Juan, P.M. (2006). Dietary habits and nutritional status of school aged children in Spain. *Nutrición Hospitalaria* 21, 374-378.
- Ferrer, E.; Alegría, A.; Farré, R.; Abellán, P.; Romero, F. (2000). Effects of thermal processing and storage on available lysine and furfural compounds contents of infant formulas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, 1817-1822.
- Feskanich, D.; Weber, P.; Willet, W.C.; Rockett, H.; Booth, S.L.; Colditz, G.A. (1999). Vitamin K intake and hip fractures in women: a prospective study. *The American Journal of Clinical Nutrition* 69, 74-79.
- Finch, C. (1994). Regulators of iron balance in humans. *Blood* 84, 1697-1702.
- Fink, H. (1963). Die experimentelle alimentare Lebernekrose als empfindlicher Indikator bei thermischer Belastung der Milch über die Magermilchtrocknung. *Nahrung* 7, 277-299.
- Finot, P.A. (1990). Metabolism and physiological effects of Maillard reaction products (MRP). En P.A. Finot, H.V. Aeschbacher, R.F. Hurrell, R. Liardon (Eds.), *The Maillard Reaction in Food Processing, Human Nutrition and Physiology*. Basel, Switzerland: Birkhäuser Verlag.
- Finot, P.A. (1993). Toxicology of nonenzymatic browning. En R. Macrae, R.K. Robinson, M.J. Sadler (Eds.), *Encyclopaedia of Food Science, Food Technology and Nutrition*. London, UK: Academic Press.
- Finot, P.A.; Furniss, D.E. (1989). Metabolic transit and toxicity of Maillard Reaction Products. En J.W. Baynes, V.M. Monnier, R. Alan (Eds.), *The Maillard Reaction in aging, diabetes and nutrition*. New York: Liss, Inc.

- Finot, P.A.; Magnenat, E. (1981). Metabolic transit of early and advanced Maillard products. *Progress in Food and Nutrition Science* 5, 193-207.
- Fishman, S.M. (2000). The role of vitamins in the prevention and control of anemia. *Public Health Nutrition* 3, 125-50.
- Fly, A.D.; Czarnecki-Maulden, G.L. (2000). Iron bioavailability from hemoglobin and hemin in chick, rat, cat, and dog: a comparative study. *Nutrition Research* 20, 237-248.
- Flynn, A.; Cashman, K. (1999). Calcium fortification of foods. En R. Hurrell (Ed.), *Mineral Fortification of Foods*. Leatherhead, England: Leatherhead International Ltd.
- Fogliano, V.; Monti, S.M.; Musella, T.; Randazzo, G.; Ritieni, A. (1999). Formation of coloured Maillard reaction products in a gluten-glucose model system. *Food Chemistry* 66, 293-299.
- Fomon, S.J.; Drulis, J.M.; Nelson, S.E.; Serfass, R.E.; Woodhead, J.C.; Ziegler, E.E. (2003). Inevitable iron loss by human adolescents, with calculations of the requirement for absorbed iron. *The Journal of Nutrition* 133, 167-72.
- Forbes, G. (1994). Nutrición y crecimiento. En E.R. McArney, R.E. Kreipe, D.P. Orr, G.D. Comerci (Eds.), *Medicina del adolescente*. Buenos Aires: Médica Panamericana.
- Forbes, G.B. (1981). Nutritional requirements in adolescente. En R.M. Suskind (Ed.), *Textbook of pediatric nutrition*. Nueva York: Raven Press.
- Forbes, J.M.; Cooper, M.E.; Oldfield, M.D.; Thomas, M.C. (2003). Role of advanced glycation end products in diabetic nephropathy. *Journal of the American Society of Nephrology* 14, 254-258.
- Ford, J.E. (1973). En J.W.G. Porter, B.A. Rolls (Eds.), *Proteins in Human Nutrition*. London: Academic Press.

- Ford, J.E.; Hurrell, R.F.; Finot, P.A. (1983). Storage of milk powders under adverse conditions. 2. Influence on the content of water-soluble vitamins. *The British Journal of Nutrition* 49, 355-364.
- Forellat Barrios, M.; Gautier du Défaix Gómez, H.; Fernández Delgado, N. (2000). Metabolismo del hierro. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia* 16, 146-160.
- Föster, A., Kühne, Y.; Henle, T. (2004). Dietary intake and urinary excretion of Maillard reaction products. *Czech Journal of Food Sciences* 22, 96-98.
- Föster, A., Kühne, Y.; Henle, T. (2005). Studies on absorption and elimination of dietary Maillard reaction products. *Annals of the New York Academy of Science* 1043, 474-481.
- Fournier, P.; Dupuis, Y.; Fournier, A. (1975). L'absorption, par le rat, du calcium de divers lairs, examinée en fonction de leur teneur en phosphore total et en lactose. *Annales de la Nutrition et de l'Alim* 29, 424-438.
- Fraser, D.R. (1980). Regulation of the metabolism of vitamin D. *Physiological Reviews* 60, 551-613.
- Freeman, J.B.; Stegink, L.D.; Meyer, P.D.; Fry, L.K.; Denbesten, L. (1975). Excessive urinary zinc losses during parenteral alimentation. *The Journal of Surgical Research* 18, 463-469.
- Friedman, M. (1996). Food browning and its prevention: an overview. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44, 631-653.
- Friedman, M.; Finot, P.A. (1990). Nutritional improvement of bread with lysine and γ -glutamyllysine: studies in mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 38, 2011-2020.
- Fritz, J.C.; Pla, G.W.; Harrison, B.N.; Clark, G.A.; Smith, E.A. (1977). Measurement of the bioavailability of iron using the rat hemoglobin repletion test. *Journal of the Association of Official Analytical Chemist* 61, 709-1014.

- Fujimoto, D.; Hirama, M.; Iwashita, T. (1982a). Histidinoalanine, a new crosslinking amino acid, in calcified tissue collagen. *Biochemical and biophysical research communications* 104, 1102-1106.
- Fujimoto, D.; Hirama, M.; Iwashita, T. (1982b). Occurrence of lysinoalanine in calcified tissue collagen. *Biochemical and biophysical research communications* 103, 1378-1383.
- Fujimoto, S.; Kubo, T.; Tanaka, H.; Miura, M. ; Seino, Y. (1995). Urinary pyridinoline and deoxypyridinoline in healthy children and in children with growth hormone deficiency. *International Journal of Food Science and Nutrition* 80, 1922-1928.
- Furniss, D.E.; Vuichoud, J.; Finot, P.A.; Hurrell, R.F. (1989). The effect of Maillard Reaction Products on Zinc Metabolism in the rat. *The British Journal of Nutrition* 62, 739-749.
- Galán, F.; Martínez Valverde, A. (1995). Estado nutricional en escolares de la zona básica de Nerja. Nestlé: Premios Nutrición Infantil.
- Galdó, A.; Cruz, M. (1995). Tratado de Exploración clínica en Pediatría. Barcelona: Masson.
- Galdó, G. (1999). Adolescencia. Un periodo de características específicas biopsicosociales. *Anales Españoles de Pediatría* 124, 1-6.
- Garbayo Solana, J.; Craviotto, R.; Abelló, M.; Gñomez, C.; Oliver, M.; Marimón, L.; Samaranch, J.; Armengol, A.; Soler, L.; Vidal, J. (2000). Consumo de nutrientes y hábitos alimentarias de adolescentes de Balaguer. *Revista de Pediatría de Atención Primaria* 7, 47-58.
- García González, A.; Molinero, L.; Achón, M. (2006). Estudio sobre la publicidad referente a alimentos y bebidas, emitida en televisión durante el horario infantil. *Public Health Nutrition* 9, 130.
- García, M.N.; Martínez-Torres, C.; Layrisse, M. (1996). Heat treatment on heme iron and iron-containing proteins in meat: iron absorption in humans from

- diets containing cooked meat fractions. *The Journal of Nutrition Biochemistry* 7, 49-54.
- García-Arias, M.T.; Castrillón, A.M.; Navarro, M.P. (1994). Protein, calcium and phosphorus utilisation in diets containing raw, cooked or canned tuna. Influence of 1 and 3 years' storage time. *International Journal of Food Science and Nutrition* 45, 237-247.
- García-Casal, M.N.; Layrisse, M.; Solano, L.; Barón, A. (1998). Vitamina A and β -carotene can improve nonheme iron absorption from rice, wheat and corn by humans. *The Journal of Nutrition* 128, 646-650.
- García-Closas, R.; Berenguer, A.; González, C.A. (2006). Changes in food supply in Mediterranean countries from 1961 to 2001. *Public Health Nutrition* 9, 53-60.
- Gavin, M.W.; McCarthy, D.M.; Garry, P.J. (1994). Evidence that iron stores regulate iron absorption-a setpoint theory. *The American Journal of Clinical Nutrition* 59, 1376-1380.
- Gerrard, J.A.; Brown, P.K.; Fayle, S.E. (2002a). Maillard crosslinking of food proteins II: the reaction of glutaraldehyde, formaldehyde and glyceraldehydes with ribonuclease. *Food Chemistry* 79, 343-349.
- Gerrard, J.A.; Brown, P.K.; Fayle, S.E. (2002b). Maillard crosslinking of food proteins III: the effects of glutaraldehyde, formaldehyde and glyceraldehydes upon bread and croissants. *Food Chemistry* 80, 45-50.
- Gertner, J.M. (1999). Skeletal physiology in childhood and adolescence. En M.J. Favus (Ed.), *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism, 4th edition*. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins.
- Ghazali, S.; Barratt, T.M. (1974). Urinary excretion of calcium and magnesium in children. *Archives of Diseases in Childhood* 49, 97-101.

- Gilmore, R.; Cohn, H.; Glaser, M. (1979). Fluidity of LM cell membranes with modified lipid compositions as determined with 1,6-diphenyl-1,3,5-hexatriene. *Biochemistry* 18, 1042-1049.
- Ginty, F. (2003). Dietary protein and bone health. *Proceedings of the Nutrition Society* 62, 867-876.
- Gleerup, A.; Rossander-Hulthen, L.; Gramatkovski, E.; Hallberg, L. (1995). Iron absorption from the whole diet: comparison of the effect of two different distributions of daily calcium intake. *The American Journal of Clinical Nutrition* 61, 97-104.
- Gleerup, A.; Rossander-Hulthen, L.; Hallberg, L. (1993). Duration of the inhibitory effect of calcium on non haem iron absorption in man. *European Journal of Clinical Nutrition* 47, 875-879.
- Glidewell, C.; Glidewell, S.M. (1993). The fate of nitrite in food processing: isolation of dinuclear and tetranuclear iron-sulphur nitrosyl complexes from cysteine and methionine sources. *Food Chemistry* 46, 225-230.
- Gómez, J.M.; de la Torre, M.C. (1989). Influencia de la tecnología en el valor nutritivo de los alimentos. Proteínas. *Alimentaria* 204, 15-21.
- Gomyo, T.; Miura, M. (1986). Effect of melanoidin on the digestion and absorption of disaccharides in the small intestine of rats. En M. Fujimaki, M. Namiki, H. Kato (Eds.), *Amino-Carbonyl Reactions in Food and Biological Systems*. Amsterdam: Elsevier.
- Gong, E.J.; Heald, F.P. (1994). Diet, Nutrition and adolescence. En M.E. Shils, J.A. Olson, M. Shike (Eds.), *Modern nutrition in health and disease*. 8th Edition. Philadelphia, PA: Lea and Febiger.
- Gordon, M.H. (2001). The development of oxidative rancidity in foods. En J. Pokorny, N. Yaanishlieva, M. Gordon (Eds.), *Antioxidants in food*. Cambridge, UK: Woodhead Publishing Limited, CRC press.

- Gould, G.W. (1995). The microbe as a high pressure target. En D.A. Ledward, D.E. Johnston, R.G. Earnshaw, A.M.P. Hasting (Eds.), *High pressure processing of foods*. Leicestershire, Reino Unido: Nottingham University Press.
- Green, J.; Kleeman, C. (1991). Role of bone in regulation of systemic acid-base balance. *Kidney International* 39, 9-26.
- Green, R.; Charlton, R.W.; Seffel, H. Bothwell T, Mayet F, Adams B, Finch C, Layrisse M. (1968). Body iron excretion in man: a collaborative study. *The American Journal of Medicine* 45, 336-353.
- Green, T.J.; Whiting, S.J. (1994). Potassium bicarbonate reduces high protein-induced hypercalciuria in adult men. *Nutrition Research* 14, 991-1002.
- Greger, J.L. (1988). Effect of variations in dietary protein, phosphorus, electrolytes and vitamin D on calcium and zinc metabolism. En C.E. Bodwell, J.W. Erdman (Eds.), *Nutrient interactions*. New York: Marcel Dekker.
- Greger, J.L.; Zaikis, S.C.; Abernathy, R.P.; Bennett, D.A.; Huffman, J. (1978). Zinc, nitrogen, copper, iron, and manganese balance in adolescent females fed two levels of zinc. *The Journal of Nutrition* 108, 1449-1456.
- Gregor, J.L.; Emery, S.M. (1987). Mineral metabolism and bone strength of rats fed coffee and decaffeinated coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 35, 551-556.
- Griessen, M.; Cochet, B.; Infante, F.; Jung, A.; Bartholdi, P.; Donath, A.; Loizeau, E.; Courvoisier, B. (1986). Calcium absorption from milk in lactase deficient subjects. *The American Journal of Clinical Nutrition* 49, 377-384.
- Griffith, T.; Johnson, J.A. (1957). Relation of the browning reaction to storage of sugar cookies. *Cereal Chemistry* 34, 59-169.
- Grunbaum, J.A.; Kann, L.; Kinchen, S.; Ross, J.; Hawkins, J.; Lowry, R.; Harris, W.A.; McManus, T.; Chyen, D.; Collins, J. (2004). Youth risk behaviour surveillance-United States, 2003. *MMWR Surveillance Summaries* 53, 1-96.

- Grupo Colaborativo AEP-SENC-SEEDO. (2002). Dossier de Consenso: Curvas de Referencia para la Tipificación Ponderal. Población Infantil y Juvenil. Madrid: Ediciones IM&C.
- Guéguen, L.; Pointillart, A. (2000). The bioavailability of dietary calcium. *Journal of the American College of Nutrition* 19, 199-136.
- Gundberg, C.M.; Anderson, M.; Dickson, I.; Gallop, P.M. (1986). Glycated osteocalcin in human and bovine bone. *The Journal of Biological Chemistry* 261, 14557-14561.
- Gunnes, M.; Lehmann, E.H. (1995). Dietary calcium, saturated fat, fibre and vitamin C as predictors of forearm cortical and trabecular bone mineral density in healthy children and adolescents. *Acta Paediatrica* 84, 388-392.
- Guthrie, B.; Picciano, M.F. (1995). Human Nutrition. St. Louis, MO: Mosby-Year Book.
- Guthrie, J.F.; Lin, B-H; Frazao, E. (2002). Role of food prepared away from home in the American diet, 1977-78 versus 1994-96: changes and consequences. *Journal of nutrition education and behavior* 34, 140-150.
- Haag, M.; Magada, O.N.; Claassen, N.; Böhmer, L.H.; Kruger, M.C. (2003). Omega-3 fatty acids modulate ATPases involved in duodenal Ca absorption. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 68, 423-429.
- Haas, J.D.; Brownlie, T. (2001). Iron deficiency and reduce work capacity: a critical review of the research to determine a causal relationship. *The Journal of Nutrition* 131, 676-690.
- Hadj-Aïssa, A.; Cochat, P.; Dubourg, L.; Wright, C.; Pozet, N. (1994). La mesure de la fonction rénale chez l'enfant. *Archives of Pediatrics* 1, 273-280.
- Halbert, K.E.; Tsang, R.C. (1992). Neonatal calcium, phosphorus, and magnesium homeostasis. En R.A. Polin, W.W. Fox (Eds.), *Fetal and Neonatal Physiology*. Philadelphia: W.B. Saunders.

- Hallberg, L. (1998). Does calcium interfere with iron absorption? *The American Journal of Clinical Nutrition* 68, 3-4.
- Hallberg, L.; Brune, M.; Erlandsson, M.; Sandberg, A.S.; Rossander-Hulthen, L. (1991). Calcium: effect of different amounts on nonheme and heme iron absorption in man. *The American Journal of Clinical Nutrition* 53, 112-119.
- Hallberg, L.; Hulthen, L. (2000). Prediction of dietary iron absorption: an algorithm for calculating absorption and bioavailability of dietary iron. *The American Journal of Clinical Nutrition* 71, 1147-1160.
- Hallberg, L.; Hulthen, L. (2002). Perspectives of iron absorption. *Blood Cells, Molecules and Diseases* 29, 562-573.
- Hallberg, L.; Hulthen, L.; Gramatkovski, E. (1997). Iron absorption from the whole diet in men: how effective is the regulation of iron absorption? *The American Journal of Clinical Nutrition* 66, 347-356.
- Hallberg, L.; Rossander, L. (1982). Effect of different drinks on the absorption of non heme iron from composite meals. *Human Nutrition. Applied Nutrition* 36, 116-123.
- Hallberg, L.; Rossander-Hulthen, L. (1989). Prevalence of iron deficiency in European countries and attempts to analyze possible causes of differences. *Bibliotheca Nutritio et Dieta* 44, 94-105.
- Hallberg, L.; Rossander-Hulthen, L.; Brune, M.; Glerup, A. (1993). Inhibition of haem-iron absorption in man by calcium. *British Journal of Nutrition* 69, 533-540.
- HAMPL, J.S.; Taylor, C.A.; Johnston, C.S. (1999). Intakes of vitamin C, vegetables and fruits: which schoolchildren are at risk? *Journal of the American College of Nutrition* 18, 582-590.
- Hansen, M.; Sandstrom, B.; Jensen, M.; Sorensen, S.S. (1997). Casein phosphopeptides improve zinc and calcium absorption from rice based but

- not from whole grain infant cereal. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 24, 56-62.
- Hansen, M.; Thilsted, S.H.; Sandstrom, B.; Kongsbak, K.; Larsen, T.; Jensen, M.; Sorensen, S.S. (1998). Calcium absorption from small soft-boned fish. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 12, 148-154.
- Hawkins, W.W. (1964). Iron, copper, and cobalt. En G.H. Beaton, E.W. McHenry (Eds.), *Nutrition: A Comprehensive Treatise*. New York: Academic Press.
- Heaney, R.P. (1996). Calcium. En J.P. Bilezikian, L.G. Raisz, G.A. Rodan (Eds.), *Principles of Bone Biology*. New York: Academic Press.
- Heaney, R.P.; Abrams, S.; Dawson Hughes, B.; Looker, A.; Marcus, R.; Matkovic, V. (2001). Peak bone mass. *Osteoporosis International* 11, 985-1009.
- Heath, A.L.; Fairweather-Tait, S.J. (2002). Clinical implications of changes in the modern diet: iron intake, absorption and status. *Best Practice and Research. Clinical Haematology* 15, 225-241.
- Henle, T. (2003). AGEs in food: do they play a role in uremia? *Kidney International* 63, 145-147.
- Henriksen, L.K.; Mahalko, J.R.; Johnson, L.A.K. (1985). Canned foods: Appropriate in trace element studies? *Journal of the American Dietetic Association* 85, 563-568.
- Henry, K.M.; Kon, S.K.; Lea, C.H.; White, J.C. (1948). Deterioration on storage of dried skim milk. *Journal of Dairy Research* 15, 292-293.
- Henry, Y.M.; Fatayerji, D.; Eastell, R. (2004). Attainment of peak bone mass at the lumbar spine, femoral neck and radius in men and women: relative contributions of bone size and volumetric bone mineral density. *Osteoporosis International* 15, 263-273.

- Herbert, V. (1987). Recommended dietary intakes (RDI) of iron in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition* 45, 679-686.
- Hermosin, J., Ledl, F.; Gómez-Sánchez. A. (1992). Influence of oxidized lipids on the non-enzymatic browning reaction: interaction between linolenic acid and an Amadori compound. *Chemistry and Physics of Lipids* 63, 265-270.
- Hernández Rodríguez, M. (1993). Alimentación y problemas nutricionales en la adolescencia. En R. Hernández (Ed.), *Alimentación infantil*. 2ª edición. España: Díaz de Santos.
- Hernández, M. (1995). Requerimientos nutricionales en la infancia y adolescencia. *Pediatría Integral* 1, 141-149.
- Hernández, M. (2001). Particularidades de la nutrición en la infancia: Crecimiento y Nutrición. En R. Hernández (Ed.), *Alimentación infantil*. España: Díaz de Santos.
- Hill, M.V.; Ledward, D.A.; Ames, J.M. (1996). Influence of high hydrostatic pressure and pH on the rate of Maillard browning in a glucose-lysine system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44, 594-598.
- Hirota, T.; Kusu, T.; Hirota, K. (2005). Improvement of nutrition stimulates bone mineral gain in Japanese school children and adolescents. *Osteoporosis International* 16, 1057-1064.
- Hodge, J.E.; Rist, C.E. (1953). The Amadori rearrangement under new conditions and its significance for non-enzymatic browning reactions. *Journal of the American Chemical Society* 75, 316-322.
- Hofmann, T. (1998). 4-alkylidene-2-imino-5-(4-alkylidene-5-oxo-1,3-imidazol-2-ynyl)azam ethylidene-1,3-omidazolidine. A novel colored substructure in melanoidinas formed by Maillard reactions of bound arginine with glyoxal and furan-2-carboxaldehyde. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46, 3896-3901.

- Hollaway, L.; Kent, K.; Moynihan, S.; Abrams, S.A.; Friedlander, A. (2003). Altered mineral absorption and bone turnover in postmenopausal women treated with oligofructose plus inulin. *Journal of Bone and Mineral Research* 18, 266.
- Homma, S.; Fujimaki, M. (1981). Growth response of rats fed a diet containing nondialyzable melanoidins. *Progress in Food and Nutrition Science* 5, 209-216.
- Homma, S.; Murata, M. (1994). Characterization of metal chelating compounds in soluble coffee. En T.P. Labuza; G.A. Reineccius; V. Monnier, J. O'Brien, J. Baynes (Eds.), *Maillard Reaction in Chemistry, Food and Health*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry.
- Homma, S.; Murata, M. (2001). Metal chelating compounds in instant coffee. *Annals of Nutrition and Metabolism* 45, 394.
- Hoppe, C.; Mølgaard, C.; Michaelsen, K. (2000). Bone size and bone mass in 10-years-old Danish Children. *Osteoporosis International* 11, 1024-1030.
- Hui, S.L.; Dimeglio, L.A.; Longcope, C.; Peacock, M.; McClintock, R.; Perkins, A.J.; Johnston, C.C. (2003). Difference in bone mass between black and white American children: attributable to body build, sex hormone levels, or bone turnover? *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 88, 642-649.
- Hunt, J.R. (2003a). Bioavailability of iron, zinc, and other trace minerals from vegetarian diets. *The American Journal of Clinical Nutrition* 78, 633-639.
- Hunt, J.R. (2003b). High-, but not low-bioavailability diets enable substantial control of women's iron absorption in relation to body iron stores, with minimal adaptation within several weeks. *The American Journal of Clinical Nutrition* 78, 1168-1177.

- Hunt, J.R.; Gallagher, S.K.; Johnson, L.K. (1994). Effect of ascorbic acid on apparent iron absorption by women with low iron stores. *The American Journal of Clinical Nutrition* 59, 1381-1385.
- Hunt, J.R.; Roughead, Z.K. (2000). Adaptation of iron absorption in men consuming diets with high or low iron bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition* 71, 94-102.
- Hurrell, R. (2002). How to ensure adequate iron absorption from iron fortified food. *Nutrition Reviews* 60, 7-15.
- Hurrell, R.F. (1990). Influence of the Maillard reaction on the nutritional value of food. En P.A. Finot, H.V. Aeshbacher, K.F. Hurrell, K. Liardon (Eds.), *The Maillard Reaction in food, processing, Human Nutrition and Physiology*. Basel, Switzerland: Birkhäuser Verlag.
- Hurrell, R.F. (1997). Bioavailability of iron. *European Journal of Clinical Nutrition* 51, 4-8.
- Hurrell, R.F.; Finot, P.A.; Ford, J. (1983) Storage of milk powders under adverse conditions.1. Losses of lysine and of other essential amino acids as determined by chemical and microbiological methods. *The British Journal of Nutrition* 49, 343–354.
- Hurrell, R.F.; Reddy, M.B.; Juillerat, M.; Cook, J.D. (2006). Meat protein fractions enhance nonheme iron absorption in humans. *The Journal of Nutrition* 136, 2808-2812.
- Hurrell, R.F.; Reddy, M.; Cook, J.D. (1999). Inhibition of non-haem iron absorption in man by polyphenolic-containing beverages. *British Journal of Nutrition* 81, 289-295.
- Hurrell, R.F.; Carpenter, K.J. (1977). Mechanism of heat damage in proteins. 8. The role of sucrose in the susceptibility of protein foods to heat damage. *The British Journal of Nutrition* 38, 285-289.

- Iáñez, M. I. (1997). Valoración del estado nutricional de una población infantil escolarizada de Granada. Influencia del Comedor Escolar. Tesis doctoral, Facultad de Medicina Universidad de Granada.
- Idouraine, A.; Khan, M.J.; Weber, C.C. (1996). In vitro binding capacity of wheat bran rice bran and oat fiber for Ca, Mg, Cu and Zn alone and in different combinations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44, 2067-2072.
- Igene, J.O.; King, J.A.; Pearson, A.M.; Gray, J.I. (1979). Catalytic activity of iron in meat. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 27, 838-842.
- Ilich, J.Z.; Badenhop, N.E.; Jelic, T.; Clairmont, A.C.; Nagode, L.A.; Matkovic, V. (1997). Calcitriol and bone mass accumulation in females during puberty. *Calcified Tissue International* 61, 104-109.
- Ilich-Ernst, J.Z.; Mckenna, A.A.; Badenhop, N.E.; Clairmont, A.C., Andon, M.B.; Nahhas, R.W. (1998). Iron status, menarche, and calcium supplementation in adolescent girls. *The American Journal of Clinical Nutrition* 68, 880-887.
- Institute of Medicine (2001). Dietary Reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. Washington, DC: National Academy Press.
- Instituto Europeo de Estudios sobre Alimentación. (1999). *British Journal of Nutrition* 81, supl. 2.
- Jackman, L.A.; Millaje, S.S.; Martin, B.R.; Word, O.B.; McCabe, G.P.P.; Peacock, M.; Weaver, C.M. (1997). Calcium retention in relation to calcium intake and postmenarcheal age in adolescent females. *The American Journal of Clinical Nutrition* 66, 327-333.

- James, W.P.T. (2002). The future. En W. Burniat, T. Cole, I. Lissau, E. Poskitt (Eds.), *Child and adolescent obesity. Causes and consequences, prevention and management*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Jemmali, M. (1969). Influence of the Maillard reaction products on some bacteria of the intestinal flora. *The Journal of Applied Bacteriology* 32, 151-155.
- Jenkins, D.J.A.; Wolever, T.M.S.; Jenkins, A.L. (1994). Diet factors affecting nutrient absorption and metabolism. En M.E. Shils, J.A. Olson, M. Shike (Eds.), *Modern nutrition in health and disease*. 8th edition. Philadelphia: Lea and Febiger.
- Jensen, L.B.; Kollerup, G.; Quaade, F.; Sorensen, O.H. (2001). Bone minerals changes in obese women during a moderate weight loss with and without calcium supplementation. *Journal of Bone and Mineral Research* 16, 141-147.
- Jiaan, D.B.; Seftel, A.D.; Fogarty, J.; Hampel, N.; Cruz, W.; Pomerantz, J.; Zuik, M.; Monnier, V.M. (1995). Age-related increase in an advanced glycation end product in penile tissue. *World Journal of Urology* 13, 369-375.
- Jiménez, M. (2006). Publicidad y alimentación: niños obesos buscando la perfección del cuerpo adulto. *Trastornos de la conducta alimentaria* 3, 245-263.
- Jing, H.; Kitts, D.D. (2004). Redox-related cytotoxic response to different casein glycation products in Caco-2 and Int-407 cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 3577-3582.
- Jodral-Segado, A.M.; Navarro-Alarcón, M.; López-García de la Serrana, H.; López-Martínez, M.C. (2003). Magnesium and calcium contents in foods from SE Spain: influencing factors and estimation of daily dietary intakes. *The Science of the Total Environment* 312, 47-58.

- Johnson, G.H.; Baker, D.H.; Perkins, E.G. (1979). Nutritional implications of the Maillard reaction. The metabolism of fructose-phenylalanine in the rat. *The Journal of Nutrition* 109, 590-596.
- Johnson, K.A., Gorzinski, S.J., Bodner, K.M.; Campbell, R.A.; Wolf, C.H.; Friedman, M.A.; Mast, R.W. (1986). Chronic toxicity and oncogenicity study on acrylamide incorporated in the drinking water of Fischer 344 rats. *Toxicology and Applied Pharmacology* 85, 154-168.
- Johnson, P.E. (1991). Effect of food processing and preparation on mineral utilization. En M. Friedman (Ed.), *Nutritional and toxicological. Consequences of food processing*. New York: Plenum Press.
- Johnson, P.E.; Lykken, G.; Mahalko, J.; Milne, D.; Inman, L.; Sandstead, H.H.; García, W.J.; Inglett, G.E. (1983). The effect of browned and unbrowned corn products on absorption of Zn, Fe and Cu in human. En G.R. Waller, M.S. Feather (Eds.), *The Maillard Reaction in Food and Nutrition*. Washington, D.C.: American Chemical Society.
- Johnston, C.C.; Miller, J.Z.; Siemenda, C.W.; Reister, T.K.; Hui, S.; Christian, J.C.; Peacock, M. (1992). Calcium supplementation and increases in bone mineral in children. *The New England Journal of Medicine* 327, 82-87.
- Jones, G.; Riley, M.D.; Whiting, S. (2001). Association between urinary potassium, urinary sodium, current diet, and bone density in prepubertal children. *The American Journal of Clinical Nutrition* 73, 839-844.
- Jousse, F.; Jongen, T.; Agterof, W.; Rusell, S.; Braat, P. (2002). Simplified kinetic scheme of flavour formation by the Maillard reaction. *Journal of Food Science* 67, 2534-2542.
- Kaanane, A.; Labuza, T.P. (1989). The Maillard Reaction in Foods. En J.W. Baynes, V.M. Monnier (Eds.), *The Maillard Reaction in aging, diabetes and nutrition*. New York: Alan R. Liss, Inc.

- Kaminogawa, S.; Kumagai, Y.; Yamauchi, K.; Iwasaki, E.; Mukoyoma, T.; Baba, M. (1984). Allergic skin reactivity and chemical properties of allergens in two grades of lactose. *Journal of Food Science* 4, 529-535.
- Kankova K, Sebekova K. (2005). Genetic variability in the REGE gene: possible implications for nutrigenetics, nutrigenomics, and understanding the susceptibility to diabetic complications. *Molecular Nutrition and Food Research* 49, 700-709.
- Kapsokefalou, M.; Miller, D.D. (1993). Lean beef and beef fat interact to enhance nonheme iron absorption in rats. *The Journal of Nutrition* 123, 1429-1434.
- Kapsokefalou, M.; Miller, D.D. (1995). Iron speciation in intestinal contents of rats fed meals composed of meat and nonmeat sources of protein and fat. *Food Chemistry* 52, 330-342.
- Karbach, U. (1992). Paracellular calcium transport across the small intestine. *The Journal of Nutrition* 122, 672-677.
- Kastenmayer, P.; Davidsson, L.; Galan, P.; Cherouvrier, F.; Hercberg, S.; Hurrell, R.F. (1994). A double stable isotope technique for measuring iron absorption in infants. *British Journal of Nutrition* 71, 411-424.
- Kato, H. (1989). Scavenging of active oxygen by melanoidin. *Agricultural and Biological Chemistry* 53, 3383-3385.
- Kato, Y.; Matsuda, T.; Kato, N.; Nakamura, R. (1989). Maillard Reaction of disaccharides with protein: suppressive effect of non reducing end pyranoside groups on browning and protein polymerization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 37, 1077-1081.
- Kato, Y.; Watanabe, K, Sato, Y. (1981). Effect of some metals on the Maillard reaction of ovoalbumin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 29, 540-543.

- Kaye, Y.K.; Easa, A.M.; Ismail, N. (2001). Reducing weight loss of retorted soy protein tofy by using glucose- and microwave-pre-heating treatment. *International Journal of Food Science and Technology* 36, 387-392.
- Kelner, K.; Helmuth, L. (2003). Obesity. What is be done? *Science* 299, 845-849.
- Kerstetter, J.E.; Allen, L.H. (1994). Protein intake and calcium homeostasis. *Advances in Nutrition Research* 9, 167-181.
- Kerstetter, J.E.; Insogna, K. (1995). Do dairy products improve bone density in adolescent girls? *Nutrition Reviews* 53, 328-332.
- Kerstetter, J.E.; O'Brien, K.; Insogna, K. (2002). Dietary protein and intestinal calcium absorption. *The American Journal of Clinical Nutrition* 73, 990-992.
- Kerstetter, J.E.; O'Brien, K.O.; Insogna, K.L. (1998). Dietary protein affects intestinal calcium absorption. *The American Journal of Clinical Nutrition* 68, 859-865.
- Kersting, M.; Alexy, U.; Sichert-Hellert, W. (2001). Dietary intake and food sources of minerals in 1 to 18 year old German children and adolescents. *Nutrition Research* 21, 607-616.
- Kersting, M.; Sichert-Hellert, W.; Lausen, B.; Alexy, U.; Manz, F.; Schoch, G. (1998). Energy intake of 1 to 18 year old German children and adolescents. *Zeitschrift für Ernährungswissenschaft* 37, 47-55.
- Keskin, Y.; Moschonis, G.; Dimitriou, M.; Sur, H.; Kocaoglu, B.; Hayran, O.; Manios, Y. (2005). Prevalence of iron deficiency among schoolchildren of different socio-economic status in urban Turkey. *European Journal of Clinical Nutrition* 59, 64-71.
- Kiel, D.P.; Felson, D.T.; Hannan, M.T.; Anderson, J.J.; Wilson, P.W.F. (1990). Caffeine and the risk of hip fracture: The Framingham study. *American Journal of Epidemiology* 132, 675-684.

- Kies, C.V. (1988). Mineral utilization of vegetarians: impact of variation in fat intake. *The American Journal of Clinical Nutrition* 48, 884-887.
- Kim, S.B.; Hayase, F.; Kato, H. (1986). Desmutagenic effects of melanoidins against amino acid and protein pyrolyzates. En M. Fujimaki, M. Namiki, H. Kato (Eds.), *Amino-Carbonyl-Reactions in Foods and Biological Systems*. Amsterdam: Kodansha Ltd, Tokyo and Elsevier Science.
- Kitts, D.D.; Hu, C. (2005). Biological and chemical assessment of antioxidant activity of sugar-lysine model maillard reaction products. *Annals of the New York Academy Sciences* 1043, 501-512.
- Kitts, D.D.; Wu, C.H.; Powrie, W.D. (1993). Effect of glucose-lysine Maillard Reaction Products fractions on tissue xenobiotic enzyme systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 41, 2359-2363.
- Knipfel, J.E. (1975). Nutritional quality of several proteins as affected by heating in the presence of carbohydrates. En M. Friedman (Ed.), *Protein nutritional quality of foods and feeds*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Knipfel, J.E. (1981). Nitrogen and energy availabilities in foods and feeds subjected to heating. *Progress in Food and Nutrition Science* 5, 177-192.
- Kokot, F.; Schinzel, R.; Chudek, H.; Heidland, A.; Adamczak, M.; Fickek, R.; Wiecek, A. (2003). Relationship between plasma level of parathyroid hormone a caboxymethyllysine in hemodialyzed patients—does it exist? *Clinical Nephrology* 59, 31-34.
- Koksel, H.; Ryu, G.H.; Basman, A.; Demiralp, H.; Ng, P.K. (2004). Effects of extrusion variables on the properties of waxy hulless barley extrudates. *Nahrung* 48, 19-24.
- Koschinsky, T.; He, C.J.; Mitsuhashi, T.; Bucala, R.; Liu, C.; Buenting, C.; Heitmann, K.; Vlassara, H. (1997). Orally absorbed reactive advanced glycation end products (glycotoxins): An environmental risk factor in diabetic

- nephropathy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94, 6474-6479.
- Krabbe, S.; Christiansen, C.; Rodbro, P.; Transbol, I. (1979). Effect of puberty on rates of bone growth and mineralization: with observations in male delayed puberty. *Archives of Disease in Childhood* 54, 950-953.
- Kroh, L.; Westphal, G. (1989). Die reaktion in Lebensmittel. *Chemische Gesellschaft* 35, 73-80.
- Kume, S.; Kato, S.; Yamagishi, S.; Inagaki, Y.; Ueda, S.; Arima, N.; Oakwa, T.; Kojiro, M.; Nagata, K. (2005). Advanced glycation end-products attenuate human mesenchymal stem cells and prevent cognate differentiation into adipose tissue, cartilage and bone. *Journal of Bone and Mineral Research* 20, 1647-1658.
- Kun, Z.; Greenfield, H.; Xueqin, D.; Fraser, D.R. (2001). Improvement of bone health in childhood and adolescence. *Nutrition Research Reviews* 14, 119-151.
- Labuza, T.P.; Reineccius, G.A.; Monnier, V.M.; O'Brien, J.; Baynes, J.W. (1994). *Maillard Reactions in Chemistry, Food and Health*. Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry.
- Labuza, T.P.; Tannenbaum, S.R.; Karel, M. (1970). Water content and stability of low moisture and intermediate moisture foods. *Food Technology* 24, 543-548.
- Lanzkovski, P. (1985). Metabolismo del hierro y anemia ferripriva. En D.R. Neiler, H.A. Pearson, R.L. Balkner (Eds.), *Hematología pediátrica*. La Habana: Editorial Científico Técnica.
- Larson, N.I.; Story, M.; Wall, M.; Neumark-Sztainer, D. (2006). Calcium and dairy intakes of adolescents are associated with their home environment, taste preferences, personal health beliefs, and meal patterns. *Journal of the American Dietetic Association* 106, 1816-1824.

- Lawson, M.S.; Thomas, M.; Hardiman, A. (1998). Iron status of Asian children aged 2 years living in England. *Archives in Disease of Childhood* 78, 420-426.
- Layrisse, M.; García-Casal, M.N.; Solano, L.; Baron, M.; Arguello, F.; Llovera, D.; Ramírez, J.; Leets, I.; Tropper, E. (1997). The role of vitamin A on the inhibition of non-heme iron absorption. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 8, 61-7.
- Layrisse, M.; Martínez-Torres, C.; González, M. (1974). Measurement of the total dietary absorption by the extrinsic tag model. *The American Journal of Clinical Nutrition* 27, 152-162.
- Layrisse, M.; Martínez-Torres, C.; Leets, I.; Taylor, P.; Ramirez, J. (1984). Effect of histidine, cysteine, glutathione or beef on iron absorption in humans. *The Journal of Nutrition* 114, 217-223.
- Lea, C. H., Hannan, R.S. (1949). Studies of the reaction between proteins and reducing sugars in the dry state. I. The effects of activity of water, of pH, and of temperature on the primary reaction between casein and glucose. *Biochimica et Biophysica Acta* 3, 313-325.
- Ledward, D.A. (1979). Meat. En J.R. Priestley (Ed.), *Effects of heating on foodstuffs*. London: Applied Science Publishers, Ltd.
- Lee, C.M., Lee, R.C.; Chichester, C.O. (1974). Physiological consequences of browned food products. *Proceedings of the IVth International Congress on Food Science and Technology* 1, 587-603.
- Lee, C.M.; Chichester, C.O.; Lee, T.C. (1977). Effect of Maillard reaction products on disaccharidase activities in the rat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 25, 775-778.
- Lee, C.M.; Sherr, B.; Koh Y.N. (1984). Evaluation of kinetic parameters for a glucose-lysine Maillard reaction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 32, 379-382.

- Lee, I.E.; Chuyen, N.V.; Hayase, F.; Kato, H. (1994). Desmutagenicity of melanoidins against various kinds of mutagens and activated mutagens. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 58, 21–23.
- Lee, T.C.; Kimiagar, M.; Pintauro, S.J.; Chichester, C.O. (1981). Physiological and safety aspects of Maillard browning of foods. *Progress in Food and Nutrition Science* 5, 243-256.
- Lee, T.C.; Pintauro, S.M.; Chichester, C.O. (1982). Nutritional and toxicological effects of non enzymatic Maillard browning. *Diabetes* 31, 37-46.
- Lee, Y.S.; Noguchi, T.; Naito, H. (1983). Intestinal absorption of calcium in rats given diets containing casein or aminoacid mixture: The role of casein phosphopeptides. *British Journal of Nutrition* 49, 67-76.
- Leegwater, D.C.; De Groot, A.P.; Van Kalmthout-Kuyper, M. (1974). The aetiology of caecal enlargement in the rat. *Food and Cosmetics Toxicology* 12, 687-697.
- Leis, R.; Pavón, P.; Queiro, T.; Recarey, D.; Tojo, R. (1999). Atherogenic diet and blood lipid profile in children and adolescents from Galicia, NW Spain. The Galinut Study. *Acta Pediátrica* 88, 19-23.
- Lemann, J.Jr.; Pleuss, J.A.; Gray, R.W. (1993). Potassium causes calcium retention in healthy adults. *The Journal of Nutrition* 123, 1623-1626.
- Lengemann, F.W.; Wasserman, R.H.; Comar, C.L. (1959). Studies on the enhancement of radiocalcium and radiostrontium absorption by lactose in the rat. *The Journal of Nutrition* 68, 443-456.
- Leong, L.P.; Wedzicha, B.L. (2000). A critical appraisal of the kinetic model for the Maillard browning of glucose with glycine. *Food Chemistry* 68, 21-28.
- Lepage, Y. (1985). Recent dietary trends in Belgium: Socio-Economic Aspects. En J.M. Diehl, C. Leitzmann (Eds.), *Measurement and determinants of food habits and food preferences*. Giessen: Institute of nutrition. Justus-Liebig University.

- Levi, B.; Werman, M.J. (1998). Long-term fructose consumption accelerates glycation and several age-related variables in male rats. *The Journal of Nutrition* 128, 1442-1449.
- Lewis, V.M.; Lea, C.H. (1950). A note on the relative rates of reaction of several reducing sugars and sugar derivatives with casein. *Biochimica et Biophysica Acta* 4, 532-534.
- Lin, P.H.; Ginty, F.; Appel, L.J.; Aickin, M.; Bohannon, A.; Garner, P.; Barclay, D.; Suckey, L.P. (2003). The DASH diet and sodium reduction improve markers of bone turnover and calcium metabolism in adults. *The Journal of Nutrition* 133, 3130-3136.
- Lind, T.; Hernell, O.; Lönnerdal, B.; Stenlund, H.; Domellöf, M.; Persson, L.A. (2004). Dietary iron intake is positively associated with hemoglobin concentration during infancy but not during the second year of life. *The Journal of Nutrition* 134, 1064-1070.
- Lindenmeier, M.; Faist, V.; Hofmann, T. (2002). Structural and functional characterization of pronyl-lysine, a novel protein modification in bread crust melanoidins showing in vitro antioxidative and phase I/II enzyme modulating activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 6997-7006.
- Ling, A.R.; Malting, J.J. (1908). *Journal of the Institute of Brewing* 14, 494-521.
- Lipka, E.; Ganowiak, Z. (1993). Nutritional value of protein subjected to technological processing. Changes in content of the biologically active amino acids methionine, cysteine and taurine caused by sterilization. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny* 44, 151-181.
- Lloyd, L.; Chinchilli, V.M.; Eggle, D.F.; Rollings, N.; Kulin, H.E. (1998). Body composition development of adolescent white female. The penn state young women's health study. *Archives of Pediatrics and Adolescent Medicine* 152, 998-1002.

- Lobaugh, B. (1996). Blood calcium and phosphorus regulation. En J.B. John (Ed.), *Calcium and Phosphorus in Health and Disease*. Florida: CRC Press.
- Lombardi-Boccia, G.; Aguzzi, A.; Cappelloni, M.; Di Lullo, G.; Lucarini, M. (2003). Total-diet study: dietary intakes of macro elements and trace elements in Italy. *British Journal of Nutrition* 90, 1117-1121.
- López, H.W.; Coudray, C.; Verny, M.L.; Coudray, C.F.; Demigne, C.; Remesy, C. (2000). Fructooligosaccharides enhance mineral apparent absorption and counteract the deleterious effects of phytic acid on mineral homeostasis in rats. *Journal on Nutritional Biochemistry* 11, 500-508.
- Lovenberg, W.M. (1986). Biochemical regulation of brain function. *Nutrition Reviews* 44, 6-11.
- Lozoff, B. (1988). Behavioral alterations in iron deficiency. *Advances in Pediatrics* 35, 331-359.
- Lykken, G.; Mahalko, J; Johnson, P.E.; Milne, D.; Sandstead, H.H.; García, W.J.; Dinitzis, F.R.; Inglett, G.E. (1986). Effect of browned and unbrowned corn products intrinsically labelled with 65-Zn on absorption of 65-Zn in human. *The Journal of Nutrition*, 116, 795-801.
- Lynch, S.R.; Dassenko, S.A.; Morck, R.A.; Beard, J.L.; Cook, J.D. (1985). Soy protein products and heme iron absorption in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition* 41, 13-20.
- Lyriris, P.G.; Skarantavos, G.; Galanos, A.A.; Lamprinakos, P.; Trovas, G.; Lyriris, G.P. (1997). The influence of dairy intake in the achievement of peak bone mass in young adult men. SERONO Symp 3rd Int symp on Nutritional Aspects of Osteoporosis 16. Lausanne, Switzerland.
- Macdonald, H.M.; New, S.A.; Golden, M.H.N.; Campbell, M.K.; Reid, D.M. (2004). Nutritional associations with bone loss during the menopausal transition: evidence for a beneficial effect of calcium, alcohol, and fruit and

- vegetable nutrients and of a detrimental effect of fatty acids. *The American Journal of Clinical Nutrition* 79, 155-165.
- Mahalko, J.K.; Johnson, P.E.; Likken, G.I. (1984). Effect of fructose-tryptophan reflux product on the absorption and retention of iron in the rat. *Federation Proceedings* 43, 1050.
- Mahoney, A.W.; Hendriks, D.G. (1984). Potential of the rats as a model for predicting iron bioavailability for humans. *Nutrition Research* 4, 913-922.
- Maillard, L.C. (1912a). Action des acides amines sur les seces: formation des melanodines par voie methodique. *Comptes rendus de l'Académie des sciences* 154, 66-68.
- Maillard, L.C. (1912b). Formation d'humus et de combustibles minéraux sans intervention de l'oxygene atmospherique, des microorganismes, des hautes temperatures, ou des fortes pressions. *Comptes rendus de l'Académie des sciences* 155, 1554-1558.
- Maleki, S.J.; Chung, S.Y.; Champagne, E.T.; Raufman, J.P. (2000). The effects of roasting on the allergic properties of peanut proteins. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 106, 763-768.
- Manz, F.; Kehrt, R.; Lausen, B.; Merkel, A. (1999). Urinary calcium excretion in healthy children and adolescents. *Pediatric Nephrology* 13, 894-899.
- Martí-Henneberg, C.; Capdevila, F. (2001). Ingesta alimentaria y nutricional de los niños y los adolescentes en España. En R. Tojo (Ed.), *Tratado de Nutrición Pediátrica* (cap. 5). Barcelona: Doyma.
- Martínez de Victoria, E.; Carazo, E. (1995). Guías alimentarias para el colectivo de adolescentes. En L. Serra Majem, J. Aranceta, J. Mataix (Eds.), *Documento de Consenso. Guías alimentarias para la población española*. Barcelona: SG editores.
- Martínez, M.I.; Frasquet, I.; Alegre, A.; Gimeno, N.; Ojeda, M. (2006). Patrón dietético de un grupo de adolescentes. *Public Health Nutrition* 9, 116.

- Martínez-González, M.A. (2006). Dieta Mediterránea en la prevención primaria de enfermedades crónicas relacionadas con la nutrición. Resultados del proyecto Sun. *Public Health Nutrition* 9, 57.
- Martínez-Navarrete, N.; Camacho, M.M.; Martínez-Lahuerta, J.; Martínez-Monzó, J.; Fito, P. (2002). Iron deficiency and iron fortified foods-a review. *Food Research International* 35, 225-231.
- Martínez-Torres, C.; Layrisse, M. (1970). Effect of amino acids on iron absorption from a staple vegetable food. *Blood* 35, 669-682.
- Martínez-Torres, C.; Leeb, I.; Taylor, P.; Ramírez, J.; del Valle Camacho, M.; Layrisse, M. (1986). Heme, ferritine and vegetable iron absorption in humans from meals denatured of heme iron during the cooking of beef. *The Journal of Nutrition* 116, 1720-1725.
- Martins, S.; Jongen, W.; Van Boekel, M. (2001). A review of Maillard reaction in food and implications to kinetic modelling. *Trends in Food Science and technology* 11, 364-373.
- Mataix Verdú, J.; Aranceta Bartrina, J. (2002). Recomendaciones nutricionales y alimentarias. En J. Mataix Verdú (Ed.), *Nutrición y alimentación humana. I. Nutrientes y alimentos*. Madrid: Ergon.
- Mataix Verdú, L.; Llopis González, J. (2002). Minerales. En J. Mataix Verdú (Ed.), *Nutrición y Alimentación humana. Tomo I: Nutrientes y alimentos*. Madrid: Ergon.
- Mataix, J.; Mañas, M.; Llopis, J.; Martínez, E. (1997). Tablas de composición de alimentos españoles. 2ª Edición. Ed. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Granada.
- Matkovic, V. (1991). Calcium metabolism and calcium requirements during skeletal modeling and consolidation of bone mass. *The American Journal of Clinical Nutrition* 54, 245-260.

- Matkovic, V. (1992). Calcium intake and peak bone mass. *The New England Journal of Medicine* 327, 119-120.
- Matkovic, V.; Heaney, R.P. (1992). Calcium balance during human growth: evidence for threshold behavior. *The American Journal of Clinical Nutrition* 55, 992-996.
- Matkovic, V.; Ilich, J.Z.; Andon, M.B.; Hirsch, L.C.; Tzagournis, M.A.; Lagger, B.J.; Goel, P.K. (1995). Urinary calcium, sodium, and bone mass of young females. *The American Journal of Clinical Nutrition* 62, 417-425.
- Matsuse, T.; Ohga, E.; Teramoto, M.; Fukayama, M.; Nagai, R.; Horiuchi, S.; Ouchi, Y. (1998). Immunohistochemical localisation of advanced glycation end products in pulmonary fibrosis. *Journal of Clinical Pathology* 51, 515-519.
- Mauron, J. (1981a). The Maillard reaction in food; a critical review from the nutritional standpoint. *Progress in Food and Nutrition Science* 5, 5-35.
- Mauron, J. (1981b). General principals involved in measuring specific damage of food components during thermal processes. Physical, chemical and biological changes in food caused by thermal processing. Applied science publishers. London, 1977.
- McCarthy, A.D.; Etcheverry, S.B.; Bruzzone, L.; Cortizo, A.M. (1997). Effects of advanced glycation end-products on the proliferation and differentiation of osteoblast-like cells. *Molecular and Cellular Biochemistry* 170, 43-51.
- McGartland, C.P.; Robson, P.J.; Murray, L.J.; Cran, G.W.; Savage, M.J.; Watkins, D.C.; Rooney, M.M.; Boreham, C.A. (2004). Fruit and vegetable consumption and bone mineral density: the Northern Ireland Young Hearts Project. *The American Journal of Clinical Nutrition* 80, 1019-1023.
- McWeeny, D.J. (1981). Sulphur dioxide and the Maillard reaction in food. *Progress in food and nutrition science* 5, 395-404.

- McWeeny, D.J. (1982). Reactions of some food additives during storage. *Food Chemistry* 9, 80-101.
- Mejia, L.A.; Arroyave, G. (1982). The effect of vitamin A fortification of sugar on iron metabolism in preschool children in Guatemala. *The American Journal of Clinical Nutrition* 36, 87-93.
- Melton, S.L. (1983). Methodology for following lipid oxidation in muscle foods. *Food Technology* 37, 105-111.
- Méndez, M.A.; Popkin, B.M.; Jakszyn, P.; Berenguer, A.; Tormo, M.J.; Sanchez, M.J.; Quirós, J.R.; Pera, G.; Navarro, C.; Martinez, C.; Larrañaga, N.; Dorronsoro, M.; Chirlaque, M.D.; Barricarte, A.; Ardanaz, E.; Amiano, P.; Agudo, A.; González, C.A. (2006). Adherence to the Mediterranean diet is associated with reduced 3-year incidence of obesity. *The Journal of Nutrition* 136, 2934-2938.
- Merzenich, M.; Schultink, W.; Gross, R.; Dillon, D.; Shrimpton, R.; Feldheim, W. (1994). Effect of iron-zinc supplementation on iron, zinc and vitamin A status in Indonesian, anemic preschool children. *Proceedings of the XVI meeting of international vitamin A consultative group*. Chaing Rai, Thailand, Abstracts.
- Mesías, M.; Seiquer, I.; Galdó, G.; Muñoz-Hoyos, A.; Navarro, M.P. (2006). Idoneidad de la dieta Mediterránea para el desarrollo óseo durante la adolescencia. *Public Health Nutrition* 9, 136.
- Mesías, M.; Seiquer, I.; Navarro Martos, M.P. (2005). Valoración del contenido de minerales en la dieta: ¿Sistema informático o Análisis químico? *Nutrición Hospitalaria* XX, 158-159.
- Messina, M.J. (1999). Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects. *The American Journal of Clinical Nutrition* 70, 439-450.

- Miller, D.D. (1989). Calcium in the diet: Food sources, recommended intakes, and nutritional bioavailability. *Advances in Food and Nutrition Research* 33, 103-156.
- Miller, D.D.; Schriker, B.D.; Rasmussen, R.R.; Campen, D.V. (1981). An in vitro method for estimation of iron availability from meals. *The American Journal of Clinical Nutrition* 34, 2248-2256.
- Miller, J. (1983). Effects of heat processing diet mixture on bioavailability of iron. *Nutrition Research* 3, 351-359.
- Millward, D.J. (1999). Optimal intakes of protein in the human diet. *The Proceedings of the Nutrition Society* 58, 403-413.
- Min, C.; Kang, E.; YU, S.H.; Shinn, S.H.; Kim, Y.S. (1999). Advanced glycation end products induce apoptosis and procoagulant activity in cultured human umbilical vein endothelial cells. *Diabetes Research and Clinical Practice* 46,197-202.
- Ministerio de Sanidad y Consumo. (2007). Campañas 2006: Prevención de la obesidad infantil. Disponible en:
<http://www.msc.es/campannas/campanas06/obesidadInfant4.htm>
- Miyata, T.; Hawai, R.; Taketomi, S.; Sprague, S.M. (1996). Possible involvement of advanced glycation end-products in bone resorption. *Nephrology, Dialysis, Transplantation* 5, 54-57.
- Mølgaard, C.; Thomsen, B.L.; Michaelsen, K.F. (1999). Whole body bone mineral accretion in healthy children and adolescents. *Archives of Disease in Childhood* 81, 10-15.
- Möller, A.B. (1981). Chemical changes in ultra heat treated milk during storage. *Progress in Food and Nutrition Science* 5, 357-368.
- Monge, R.; Quintana, E.; Faiges, F.; Rivero, A.; Alvarado, J.; Muñoz, L. (1996). Perfil férrico de adolescentes urbanos costarricenses. *Revista Costarricense de Ciencias Médicas* 17, 27-33.

- Monnier, V.M.; Sell, D.R. (1994). The advanced Maillard reaction in aging and age-related-diseases probed with pentosidine. En T.P. Labuza, G.A. Reineccius, V. Monnier, J. O'Brien, J. Baynes (Eds.), *Maillard reactions in chemistry, food and health*. Cambridge: Science Park.
- Monnier, V.M.; Sell, D.R.; Nagaraj, R.M.; Miyata, S.; Grandhee, S.; Odetti, P.; Ibrahim, S.A. (1992). Maillard reaction-mediated molecular damage to extracellular matrix and other tissue proteins in diabetes, aging and uremia. *Diabetes* 41, 36-41.
- Monsen, E.R. (1982). Ascorbic acid: An enhancing factor in iron absorption. En C. Kies (Ed.) Nutritional bioavailability of iron: ACS Symposium Series No. 203, Washington DC: American Chemical Society.
- Monsen, E.R.; Cook, J.D. (1976). Food iron absorption in human subjects. IV. The effect of calcium and phosphate salts on the absorption of nonheme iron. *The American Journal of Clinical Nutrition* 29, 1142-1148.
- Monsen, E.R.; Hallberg, L.; Layrisse, M.; Hegsted, D.M.; Cook, J.D.; Mertz, W.; Finch, C.A. (1978). Estimation of available dietary iron. *The American Journal of Clinical Nutrition* 31, 134-141.
- Montellano Delgado, M.A.; Gómez Aracena, J.; García Mulero, L.; Mataix Verdú, J.; Llopis González, J. (2000). Manual de fotografías para encuestas alimentarias: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Granada.
- Mora, S. (1999). Biochemical markers of bone turnover and the volume and the density of bone in children at different stages of sexual development. *Journal of Bone and Mineral Research* 14, 1664-1671.
- Mora, S.; Prinster, C., Proverbio, M.C.; de Poli, S.C.L.; Weber, G.; Abbiati, G.; Chiumello, G. (1998). Urinary markers of bone turnover in healthy children and adolescents: age-related changes and effect of puberty. *Calcified Tissue International* 63, 369-374.

- Morales, F. J.; Romero, C.; Jiménez-Pérez, S. (1997). Chromatographic determination of bound hydroxymethylfurfural as an index of milk protein glycosylation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45, 1570-1573.
- Morales, F.J.; Fernández-Fraguas, C.; Jiménez-Pérez, S. (2005). Iron-binding ability of melanoidins from food and model systems. *Food Chemistry* 90, 821-827.
- Morales, F.J.; Jimenez-Pérez, S. (2004). Peroxyl scavenging activity of melanoidins in aqueous systems. *European Food Research and Technology* 218, 515-520.
- Morales, F.J.; Romero, C.; Jiménez-Pérez, S. (1996). Evaluation of heat-induced changes in Spanish commercial milk: hydroxymethylfurfural and available lysine content. *International Journal of Food Science and Technology* 31, 411-418.
- Morck, T.A.; Lynch, S.R.; Cook, J.D. (1983). Inhibition of food iron absorption by coffee. *The American Journal of Clinical Nutrition* 37, 416-420.
- Moreiras, O.; Carbajal, A.; Cabrera, L.; Cuadrado, C. (2004). Ingestas recomendadas de energía y nutrientes para la población española (revisadas 2002). En Departamento de Nutrición. Universidad Complutense de Madrid. *Tablas de composición de alimentos* 8ª Edición. Madrid: Ediciones Pirámide.
- Morris, C.M.; Frassetto, L.A.; Schmidlin, O.; Forman, A.; Sebastian, A. (2001). Expression of osteoporosis as determined by diet disordered electrolyte and acid base metabolism. En P. Burckhardt, B. Dawson-Hughes, R.B. Heany (Eds.), *Nutritional Aspects of Osteoporosis*. San Diego: Academic Press.
- Moynihan, P.; Adamson, A.; Rugg-Gunn, A.; Appleton, D.; Butler, T. (1996). Dietary sources of calcium and the contribution of flour fortification to total calcium intake in the diets of Northumbrian adolescents. *British Journal of Nutrition* 75, 495-505.

- Muir, A.; Hopfer, U. (1985). Regional specificity of iron uptake by small intestinal brush-border membranes from normal and iron deficient mice. *Gastrointestinal and Liver Pathology* 11, 6376-6383.
- Mukoyama, T.; Baba, M.; Morita, H.; Miyamoto, T.; Kaminogawa, S.; Yamauchi, K. (1977). Allergenicity of β -lactoglobulin in milk allergic children. *Journal of Clinical Immunology* 9, 227-30.
- Mulchandani, R.P.; Josephson, R.V.; Harper, W. (1979). Effect of processing on liquid infant milk formulas. 1. Freshly processed products. *Journal of Dairy Science* 62, 1527-1536.
- Mulvihill, B.; Kirwan, F.M.; Morrissey, P.A.; Flynn, A. (1998). Effect of myofibrillar muscle proteins on the in vitro bioavailability of non haem iron. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 49, 187-192.
- Munch, G.; Gasic-Milenkovic, J.; Arendt, T. (2003). Effect of advanced glycation endproducts on cell cycle and their relevance for Alzheimer's disease. *Journal of Neural Transmission* 65, 63-71.
- Muñoz Hoyos, A.; Molina Carballo, A. (2005). Hierro. En A. Gil Hernández (Ed.), *Tratado de Nutrición*. Madrid: Acción Médica.
- Munro, H.M. (1984). Nutrition related problems of middle age. *The Proceedings of the Nutrition Society* 46, 281-288.
- Nagao, M.; Takahashi, Y.; Yamanaka, H.; Sugimura, T. (1979). Mutagens in Coffee and Tea. *Mutation Research* 68, 101-106.
- Nagendra, R.; Venkat Rao, S. (1992). Effect of incorporation of lactulose in infant formula on the intestinal bifidobacterial flora in rats. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 43, 169-173.
- Namiki, H.E. (1988). Chemistry of Maillard Reactions: Recent studies on the browning reaction mechanism and the developments of antioxidants and mutagens. *Advances in Food and Nutrition Research* 32, 115-184.

- Naranjo, G.B.; Malec, L.S.; Vigo, M.S. (1998). Reducing sugars effect on available lysine loss of casein by moderate heat treatment. *Food Chemistry* 62, 309-313.
- National Research Council (1989). *Recommended Dietary Allowances: 10th edition*. Report of the Subcommittee on the Tenth Edition of the RDA. Food and Nutrition Board and the Commission on Life Sciences. Washington, DC: Nacional Academy Press.
- Navarro, M.P. (2003). Impact of Maillard reaction products on mineral bioavailability. En M.P. Vaquero, T. García-Arias, A. Carbajal, F.J. Sánchez-Muniz (Eds.), *Bioavailability of micronutrients and minor dietary compounds. Metabolic and Technological Aspect*. Kerala, India: Research Signpost.
- Navarro, P. (1991). Valor nutritivo del pescado. I: Pescado fresco. *Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos* 31, 330-342.
- Navarro, P.; Aspe, T., Seiquer, I. (2000). Zinc transport in Caco-2 cells and zinc in rats: influence of the heat treatment of a casein-glucose-fructose-mixture. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, 3589-3596.
- Ndiaye, B.; Lemonnier, D.; Sall, M.G.; Prudhon, C.; Diahm, B.; Zeghoud, F.; Guillozo, H.; Leite, N.; Wade, S. (1995). Serum osteocalcin regulation in protein-energy malnourished children. *Pediatric Research* 37, 606-610.
- Nicklas, T.A. (2003). Calcium intake trends and health consequences from childhood through adulthood. *Journal of the American College of Nutrition* 22, 340-356.
- Nicklas, T.A.; Myers, L.L.; O'Neil, C.; Gustafson, N. (2000). Impact of dietary fat and fiber intake on nutrient intake of adolescents. *Pediatrics* 105, e21.
- Nicklas, T.A.; Webber, L.S.; Thompson, B.; Berenson, G.S. (1989). A multivariate model for assessing eating patterns and their relation ship to

- cardiovascular risk factors: The Bogalusa heart study. *The American Journal of Clinical Nutrition* 49, 1320-1327.
- Nickols-Richardson, S.M.; O'Connor, P.J.; Shapses, S.A.; Lewis, R.D. (1999). Longitudinal bone mineral density changes in female child artistic gymnasts. *Journal of Bone and Mineral Research* 14, 994-1002.
- Nicoli, M.C.; Anese, M.; Parpinel, M.T.; Franceschi, S.; Lericci, C.R. (1997). Study on loss and formation of antioxidants during processing and storage. *Cancer letters* 114, 71-74.
- Niederwieser, A.; Giliberti, P.; Matasovic, A. (1975). *Pediatric Research* 9, 867-872.
- NIH Consensus Conference. NIH Consensus Development Panel on Optimal Calcium Intake (1994). Optimal calcium intake. *JAMA: The Journal of the American Medical Association* 272, 1942-1948.
- Nordin, B.E. (1997). Calcium in health and disease. *Food, Nutrition and Agriculture* 20, 13-26.
- Novotny, R.; Daida, Y.G.; Acharya, S.; Grove, J.S.; Vogt, T.M. (2004). Dairy intake is associated with lower body fat and soda intake with greater weight in adolescent girls. *The Journal of Nutrition* 134, 1905-1909.
- O'Brien, J.; Morrissey, P.A. (1989). Nutritional and Toxicological aspects of Maillard Browning reaction in foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 28, 211-248.
- O'Brien, J.; Morrissey, P.A. (1997). Metal ion complexation by products of the Maillard reaction. *Food Chemistry* 58, 17-27.
- O'Brien, J.; Morrissey, P.A.; Flynn, A. (1986). The effect of Maillard reaction products on mineral homeostasis in the rat. En: *Proc. EURO-FOOD TOX II*, Institute of Toxicology, Swiss Federal Institute of Technology, Zurich.

- O'Brien, J.; Morrissey, P.A.; Flynn, A. (1994). Alterations of Maillard metabolism and secondary pathology in rats fed Maillard reaction products. En T.P. Labuza, G.A. Reineccius, V. Monnier, J. O'Brien, J. Baines (Eds.), *Maillard Reaction in Chemistry, Food and Health*. Cambridge, UK: The Royal Society of Chemistry.
- O'Brien, J.; Nursten, H.E.; Crabbe, M.J.C.; Ames, J.M. (1998). *The Maillard Reaction in Foods and Medicine*. Cambridge, UK: The Royal Society of Chemistry.
- O'Brien, J.; Walker, R. (1988). Toxicological effect of dietary Maillard reaction product in the rat. *Food and Chemical Toxicology* 26, 775-783.
- O'Brien, J.M.; Morrissey, P.A.; Flynn, A. (1989). Mineral balance study of rats fed Maillard reaction products. En L.S. Hurley, C.L. Keen, B. Lönnerdal, R.B. Rucker (Eds.), *Trace elements in man and animals*. New York: Plenum.
- O'Brien, K.O.; Abrams, S.A.; Stuff, J.E.; Liang, L.K.; Welch, T.R. (1996). Variables related to urinary calcium excretion in young girls. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 23, 8-12.
- O'Brien, K.O.; Zavaleta, N.; Caulfield, L.E.; Yang, D.X.; Abrams, S.A. (1999). Influence of prenatal iron and zinc supplements on supplemental iron absorption, red blood cell iron incorporation, and iron status in pregnant Peruvian women. *The American Journal of Clinical Nutrition* 69, 509-515.
- Oak, J.H.; Nakagawa, K.; Miyazawa, T. (2002). UV analysis of Amadori-glycated phosphatidylethanolamine in foods and biological samples. *Journal of Lipid Research* 43, 523-529.
- Ontjes, D.A. (1996). The role of estrogens and other steroid hormones in bone metabolism. En J.B. John (Ed.), *Calcium and Phosphorus in Health and Disease*. Florida: CRC Press.
- Oria, E. (2003). Factores preventivos y nutricionales de la osteoporosis. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra* 26, 81-90.

- Orozco López, P.; Zwart Salmerón, M.; Vilert Garrofa, E.; Olmos Domínguez, C. (2004). Prediction of the total calcium intake from consumption of milk products in Spain adult population. INDICAD Study 2001. *Atención Primaria* 31, 237-243.
- Oste, R., Sjodin, P.; Jagerstad, M.; Bjorck, I.; Dahlqvist, A. (1985). Effect of Maillard reaction products on carbohydrate utilization-studies in vitro and in vivo. *Food Chemistry* 16, 37-47.
- Oste, R.; Bjork, I.; Dahlqvist, A.; Jagerstad, M.; Sjodin, P.; Sjostrom, H. (1983). Effect of a glucose-lysine reaction mixture on protein and carbohydrate digestion and absorption. En G.R. Waller, M.S. Feather (Eds.), *The Maillard Reaction in Foods and Nutrition*. Washington, D.C.: American Chemical Society.
- Oste, R.E.; Dahlqvist, A.; Sjostrom, H.; Naren, O.; Miller, R. (1986). Effect of Maillard reaction products on protein digestion. In vivo studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 34, 355-358.
- Oste, R.E.; Miler, R.; Sjostrom, H.; Noren, O. (1987). Effect of Maillard reaction products on protein digestion. Studies on pure compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 35, 938-944.
- Ott, M. (1990). Attainment of peak bone mass. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 71, 1083-1088.
- Pannemans, D.L.E.; Schaafsma, G.; Westerterp, K.R. (1997). Calcium excretion, apparent calcium absorption and calcium balance in young and elderly subjects: influence of protein intake. *British Journal of Nutrition* 77, 721-729.
- Panuccio V, Mallamaci F, Tripepi G, Parlongo S, Cutrupi S, Asahi K, Miyata T, Zoccali C. (2002). Low parathyroid hormone and pentosidine in hemodialysis patients. *American Journal of Kidney Diseases* 40, 810-815.
- Peacock, M. (1987). Renal excretion of calcium. En B.E.C. Nordin (Ed.), *Calcium in human biology*. New York: Springer-Verlag.

- Peacock, M. (1991). Calcium absorption efficiency and calcium requirements in children and adolescents. *The American Journal of Clinical Nutrition* 54, 261-265.
- Pederson, C.S.; Beattle, H.G.; Stotz, E.H. (1947). Deterioration of processed fruit juices. *New York State Agricultural Experiment Station* 728, 3-32.
- Peng, L.; Ismail, N.; Easa, A. (2000) Effects of reducing sugars on texture of thermally processed soy protein isolate-glucono-delta-lactose. *Journal of Food Science and Technology* 37, 188-190.
- Peres, J.M.; Bouhallab, S.; Bureau, F.; Maubois, J.L.; Arhan, P.; Bougle, D. (1999). Reduction of iron/zinc interactions using metal bound to the caseinphosphopeptide 1-25 of β -casein. *Nutrition Research* 19, 1655-1663.
- Pérez Llamas, F.; Garaulet Aza, M.; Gil Hernández, A.; Zamora Navarro, S. (2005). Calcio, fósforo, magnesio y flúor. Metabolismo óseo y su regulación. En A. Gil Hernández (Ed.), *Tratado de Nutrición*. Madrid: Acción Médica.
- Pérez Rodrigo, C.; Ribas Barba, L.; Serra Majem, L.; Aranceta Bartrina, J. (2002). Preferencias alimentarias, conocimientos y opiniones sobre temas relacionados con alimentación y nutrición. Estudio enKid. En L. Serra Majem, J. Aranceta Bartrina (Eds.), *Alimentación infantil y juvenil* (cap.4). Barcelona: Masson.
- Pérez-Granados, A.M.; Vaquero, M.P.; Navarro, M.P. (2000). Biodisponibilidad de calcio y fósforo en ratas alimentadas con grasa de sardina cruda o frita con aceite de oliva. *Food Science and Technology International* 6, 387-397.
- Pergolizzi, R.; Lifshitz, F.; Teichberg, S.; Wapnir, R.A. (1977). Interaction between dietary carbohydrates and intestinal disaccharidases in experimental diarrhea. *The American Journal of Clinical Nutrition* 30, 482-489.
- Perkins, E.G.; Baker, D.H.; Johnson, G.H.; Makowski, E. (1981). The metabolism of fructose-phenylalanine in the rat. *Progress in Food and Nutrition Science* 5, 229-242.

- Petit, L. (1956). The formation of a copper complex by product of the Maillard reaction. Determination of an intermediate in formation of melanoidins. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences* 242, 829-831.
- Piñero, D.J.; Li, N.Q.; Connor, J.R.; Beard, J.L. (2000). Variations in dietary iron alter brain iron metabolism in developing rats. *Journal of Nutrition* 130, 254-263.
- Pinto, M.; Robine-Leon, S.; Tappay, M.; Kedinger, M.; Triadou, N.; Dussalulx, M.; Lacroix, B.; Simon-Assman, P.; Haffer, K.; Fogh, J.; Zwiebam, A. (1983). Enterocyte-like differentiation and polarization of the human colon carcinoma cell line Caco-2 in culture. *Biology of the Cell* 47, 323-330.
- Pizarro, F.; Olivares, M.; Hertrampf, E.; Mazariegos, D.I.; Arredondo, M. (2003). Heme-Iron Absorption Is Saturable by Heme-Iron Dose in Women. *The Journal of Nutrition* 133, 2214-2217.
- Powell, J.J.; Burden, T.J.; Greenfield, S.M.; Taylor, P.D.; Thompson, R.P.H. (1999). Urinary excretion of essential metals following intravenous calcium disodium edetate: an estimate of free zinc and zinc status in man. *Journal of Inorganic Biochemistry* 75, 159-165.
- Powrie, W.D.; Wu, C.H.; Molund, P. (1986). Browning reaction systems as sources of mutagens and antimutagens. *Environmental Health Perspectives* 67, 47-54.
- Powrie, W.D.; Wu, C.H.; Rosin, M.P.; Stich, H.F. (1981). Clastogenic and mutagenic activities of Maillard reaction model systems. *Journal of Food Science* 46, 1433-1438.
- Prentice, A. (1997). Is nutrition important in osteoporosis? *Proceedings of the Nutrition Society* 56, 357-367.
- Prentice, A.; Bonjour, J.P.; Branca, F.; Cooper, C.; Flynn, A.; Garabedian, M.; Müller, D.; Pannemans, D.; Weber, P. (2003). Process for the assessment of

- scientific support for claims on foods (PASS-CLAIM): Bone health and osteoporosis. *European Journal of Nutrition* 42, 28-49.
- Pynaert, I.; Matiz, C.; Bellemans, M.; De Maeyer, M.; De Henauw, S.; De Backer, G. (2005). Iron intake and dietary sources of iron in Flemish adolescents. *European Journal of Clinical Nutrition* 59, 826-834.
- Qian, M.; Eaton, J.W. (1991). Iron translocation by free fatty acids. *The American Journal of Pathology* 139, 1425-34.
- Rada-Mendoza, M.; Sanz, M.L.; Olano, A.; Villamiel, M. (2004). Formation of hydroxymethylfurfural and furosine during the storage of jams and fruit-based infant foods. *Food Chemistry* 85, 605-609.
- Ragot, F.I.J.; Rusell, G.F.; Schneeman, B.O. (1992). Effect of Maillard Reaction Products on bile acid binding, plasma and hepatic lipids and weight of gastrointestinal organs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40, 1634-1640.
- Raja, K.B.; Simpson, R.J.; Peters, T.J. (1987). Comparison of $^{59}\text{Fe}^{3+}$ uptake in vitro and in vivo by mouse duodenum. *Biochimica et Biophysica Acta* 901, 52-60.
- Ramírez-Jiménez, A.; Guerra-Hernández, E.; García-Villanova, B. (2000). Browning indicators in bread. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, 4176-4181.
- Rauch, F.; Georg, M.; Stabrey, A.; Neu, C.; Blum, W.F.; Remer, T.; Manz, F.; Schoenau, E. (2002). Collagen markers deoxypyridinoline and hydroxylysine glycosides: pediatric reference data and use for growth prediction in growth hormone-deficient children. *Clinical Chemistry* 48, 315-322.
- Reddy, M.B.; Hurrell, R.F.; Cook, J.D. (2000). Estimation of nonheme-iron bioavailability from meal composition. *The American Journal of Clinical Nutrition* 71, 937-943.

- Reddy, M.B.; Hurrell, R.F.; Juillerat, M.A.; Cook, J.D. (1996). The influence of different protein sources on phytate inhibition of nonheme iron absorption in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition* 63, 203-207.
- Reineccius, G.A. (1990). The influence of Maillard reactions on the sensory properties of foods. En P.A. Finot, H.U. Aeschbacher, F. Hurrell, R. Liardon (Eds.), *The Maillard reaction in food processing, human nutrition and physiology*. Birkhauser: Basel.
- Reineccius, G.A.; Whorton, A. (1990). Flavor problem associated with the microwave cooking of food products. En P.A. Finot, H.V. Aeschbacher, R.F. Hurrell, R. Liardon (Eds.), *The Maillard Reaction in Food Processing, Human Nutrition and Physiology*. Basel, Switzerland: Birkhäuser Verlag.
- Reiser, K. (1991). Nonenzymatic glycation of collagen in aging and diabetes. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 196, 17-29.
- Remer, T. (2000). Influence of diet on acid-base balance. *Seminars in Dialysis* 13, 221-226.
- Remer, T.; Neubert, A., Maser-Gluth, C. (2002). Anthropometry-based reference values for 24-h urinary creatinine excretion during growth and their use in endocrine and nutritional research. *The American Journal of Clinical Nutrition* 75, 561-569.
- Rendleman, J. (1986). Carbohydrate-mineral complexes in foods. En G.G. Birch, M.G. Lindley (Eds.), *Interactions of Food Components*. London: Elsevier.
- Rendleman, J.A.; Inglett, G.E. (1990). The influence of Cu (II) in the Maillard reaction. *Carbohydrate Research* 201, 311-326.
- Rendleman, J.A. (1987). Complexation of calcium by the melanoidin and its role in determining bioavailability. *Journal of Food Science* 52, 1699-1705.
- Reynolds, T.M. (1963). Chemistry of nonenzymatic browning. *Advances in Food Research* 12, 1-52.

- Rhee, K.S.; Anderson, L.M.; Sams, A.R. (1996). Lipid oxidation of beef, chicken and pork. *Journal of Food Science* 61, 8-10.
- Rianon, N.; Feedback, D.; Wood, R.; Driscoll, T.; Shackelford, L.; LeBlanc, A. (2003). Monitoring sweat calcium using skin patches. *Calcified Tissue International* 72, 694-697.
- Rico, H.; Revilla, M.; Hernández, E.R.; Villa, L.F.; Lopez-Alonso, A. (1991). Total and regional bone mineral content in normal premenopausal women. *Clinical Rheumatology* 10, 423-425.
- Rizzi, G.P. (1994). The Maillard reaction in foods. En T.P. Labuza, G.A. Reineccius, V. Monnier, J. O'Brien, J. Baynes (Eds.), *Maillard Reaction in Chemistry, Food and Health*. Cambridge, UK: The Royal Society of Chemistry.
- Rockett, H.R.H.; Berkey, C.S.; Field, A.E.; Colditz, G.A. (2001). Cross-sectional measurement of nutrient intake among adolescents in 1996. *Preventive Medicine* 33, 27-37.
- Rodríguez, N.R. (2005). Optimal quantity and composition of protein for growing children: protein for the ages: dietary proteins to meet needs throughout the life span. *Annual meeting of the American College of Nutrition* 24, 150-154.
- Román Viñas, B.; Serra Majem, L.; Ribas Barba, L.; Pérez Rodrigo, C.; Aranceta Bartrina, J. (2004). Fuentes alimentarias de energía, macronutrientes y micronutrientes en la población española infantil y juvenil. En L. Serra Majem, J. Aranceta Bartrina (Eds.), *Nutrición infantil y juvenil* (cap. 6). Barcelona: Masson.
- Román, B.; Serra Majem, L.; Aranceta Bartrina, J.; Ribas Barba, L.; Pérez Rodríguez, C. (2006). Prevalencia de actividad física y sedentarismo en la población infantil y juvenil española. *Public Health Nutrition* 9, 54.

- Romarheim, O.H.; Aslaksen, M.A.; Storebakken, T.; Krogdahl, A.; Skrede, A. (2005). *Archives of Animal Nutrition* 59, 365-375.
- Roodenburg, A.J.; West, C.E.; Beynen, A.C. (1996). Does vitamin A deficiency affect erythropoiesis in rats? *European Journal of Clinical Nutrition* 50, 84.
- Rossander-Hulthen, L.; Brune, M.; Sandstrom, B.; Lonnerdal, B.; Hallberg, L. (1991). Competitive inhibition of iron absorption by manganese and zinc in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition* 54, 152-156.
- Rossander-Hulthen, L.; Hallberg, L. (1996). Prevalence of iron deficiency in adolescents. En L. Hallberg, N.G. Asp (Eds.), *Iron nutrition in health and disease*. London, UK: John Libbery and Co.
- Rowland, I.R.; Mallet, A.K.; Wise, A. (1985). The effect of diet on the mammalian gut flora and its metabolic activities. *Critical Reviews in Toxicology* 16, 31-103.
- Rowland, I.R.; Walker, R. (1983). The gastrointestinal tract in food toxicology. En D.M. Conning, A.B.G. Landsdown (Eds.), *Toxic Hazards in Food*. London: Croom Helm.
- Roy, C.N.; Enns, C.A. (2000). Iron homeostasis: new tales from the crypt. *Blood* 96, 4020-4027.
- Royer, P.; Habib, R.; Mathieu, H. (1967). *Nephrologie im Kindesalter*. Thieme, Stuttgart.
- Rubinacci, A.; Divieti, P.; Polo, R.M.; Zampino, M.; Resimini, G.; Tenni, R. (1996). Effect of an oral calcium load on urinary markers of collagen breakdown. *Journal of Endocrinological Investigation* 19, 719-726.
- Rufián-Henares, J.A.; Delgado-Andrade, C.; Morales, F.J. (2006). Analysis of heat-damage indices in breakfast cereals: Influence of composition. *Journal of Cereal Science* 43, 63-69.

- Ruiz Melo, V.; Herrera Fuentes, C.; Rivero Martínez, J. (2006). Influencia de los cambios sociales en la ciencia de los alimentos. *Public Health Nutrition* 9, 179.
- Ruxton, C.H.S.; O'Sullivan, K.R.; Kira, T.R.; Belton, N.R.; Holmes, M.A.M. (1996). The contribution of breakfast to the diets of a sample of 136 primary school-children in Edinburgh. *British Journal of Nutrition* 75, 419-431.
- Sajithlal, G.B.; Chithra, P.; Chandrakasan, G. (1999). An in vivo study on the role of metal catalyzed oxidation in glycation and crosslinking of collagen. *Molecular and Cellular Biochemistry* 194, 257-263.
- Samman, S.; Sandstrom, B.; Toft, M.B.; Bukhare, K.; Jensen, M.; Sorensen, S.S.; Hansen, M. (2001). Green tea or rosemary extract added to foods reduces nonheme iron absorption. *The American Journal of Clinical Nutrition* 73, 607-612.
- 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. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40, 2252-2256.
- Sapers, G.M.; Hicks, K.B. (1989). Inhibition of enzymatic browning in fruits and vegetables. En J.J. Jen (Ed.), *Quality factors of fruits and vegetables: chemistry and technology*. ACC Symp., Series 405. Washington, DC: American Chemical Society.
- Sarriá, B.; López-Fandino, R.; Vaquero, M.P. (2001). Does processing of a powder or in bottle sterilized liquid infant formula affect calcium bioavailability? *Nutrition* 17, 326-331.
- Sarriá, B.; Vaquero, M.P. (2001). Zinc and iron bioavailability in a powder or in bottle sterilized infant formula estimated by in vitro and in suckling rats. *Journal of Nutritional Biochemistry* 12, 266-273.

- Sarriá, B.; Vaquero, M.P. (2004). Iron bioavailability from powdered and in bottle sterilized infant formulas in suckling and weanling rats. *Nutrition* 20, 788-793.
- Scanff, P.; Savalee, B.; Miranda, G.; Pelissier, J.P.; Guilloteau, P.; Toullec, R. (1990). In vivo gastric digestion of milk proteins. Effect of technological treatments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 38, 1623-1629.
- Schlenker, E.D. (1994). *Nutrición en el envejecimiento*. Madrid: Mosby.
- Scholl, T.O. (2005). Iron status during pregnancy: setting the stage for mother and infant. *The American Journal of Clinical Nutrition* 81, 1218-1222.
- Schricker, B.R.; Miller, D.D. (1983). Effects of cooking and chemical treatment on heme and non-heme iron in meat. *Journal of Food Science* 48, 1340-1344.
- Schroder, H.; Marrugat, J.; Covas, M.I. (2006). Fast food consumption is associated with a low adherence to the Mediterranean diet and with higher body mass index in a Mediterranean population. *Public Health Nutrition* 9, 67-68.
- Schümann, K.; Elsenhans, B.; Ehtechami, C.; Forth, W. (1990). Rat intestinal iron transfer capacity and the longitudinal distribution of its adaptation to iron deficiency. *Digestion* 46, 35-45.
- Scientific Committee for Food (SCF). (1992). Nutrient and energy intakes for the European Community. Opinion adopted by the Scientific Committee on Food on 12 December 1992. Reports of the Scientific Committee for Food, Thirsty-First Series. European Commission, Luxembourg, 1993. Disponible en: <http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out89.pdf>
- Scrimshaw, N. (1991). Iron deficiency. *Scientific American* 265, 46-52.
- Seaver, J.L.; Kertesz, Z.I. (1946). The browning (Maillard) Reaction in heated solutions of uronic acids. *Journal of the American Chemical Society* 68, 2178-2179.

- Seftel, A.D.; Vaziri, N.D.; Ni, D.; Razmjouei, K.; Fogarty, J.; Hampel, N.; Polak, J.; Wang, R.Z.; Ferguson, K.; Block, C.; Haas, C. (1997). Advanced glycation end products in human penis: elevation in diabetic tissue, site of deposition, and possible effect through iNOS or eNOS. *Urology* 50, 1016-1026.
- Seiquer, I.; Aspe, T.; Pérez-Granados A.M.; Navarro, M.P. (2002). Consumption of raw and fried sardine (*Clupea pilchardus*) as protein source of diets: effects on iron metabolism in rats. *Journal of Science of Food and Agriculture* 82, 1497-1503.
- Seiquer, I.; Aspe, T.; Vaquero, P.; Navarro, P. (2001a). Effects of heat treatment of casein in the presence of reducing sugars on calcium bioavailability: in vitro and in vivo assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, 1049-1055.
- Seiquer, I.; Delgado-Andrade, C.; Navarro, M.P. (2001b). Iron uptake and transport in Caco-2 cells in presence of heated glucosa-lysine and glucose-methionine mixtures. *1st International Congress of Trace Elements and Minerals in Medicine and Biology*, Venice, 104.
- Seiquer, I.; Delgado-Andrade, C.; Navarro, P. (2000). Effects of the heat treatment of casein on Zn transport and uptake by Caco-2 cells. *The Proceedings of the Nutrition Society* 59, 134.
- Seiquer, I.; Díaz-Alguacil, J.; Delgado-Andrade, C.; López-Frías, M.; Muñoz Hoyos, A.; Galdó, G.; Navarro, M.P. (2006b). Diets rich in Maillard reaction products affect protein digestibility in adolescent males aged 11-14 y. *The American Journal of Clinical Nutrition* 83, 1082-1088.
- Seiquer, I.; Mesías, M.; Díaz-Alguacil, J.; Navarro, M.P. (2006a). Dieta Mediterránea y utilización de la proteína en adolescentes. *Public Health Nutrition* 9, 136.
- Seiquer, I.; Mesías, M.; Muñoz Hoyos, A.; Galdó, G.; Navarro, M.P. (2007). A Mediterranean dietary style improves calcium absorption in healthy male adolescents. *Journal of the American College of Nutrition* (en prensa).

- Seiquer, I.; Navarro, M.P. (2003). Influencia de los productos de la reacción entre lípidos oxidados (4,5 (E)-epoxy-2 (E)-heptenal y 4,5 (E)-epoxy-2 (E)-decenal) y lisina sobre la utilización de zinc y calcio: ensayos en células Caco-2. *Grasas y aceites* 54, 350-357.
- Seiquer, I.; Ruiz Roca, B.; Navarro, M.P. (2006c). Studies on the antiradical activity and iron chelating power of glucosa lysine Maillard reaction products. En Cost Action 927-IMARS. *The Maillard reaction in food and medicine* 25.
- Sepeap (2007). Disponible en:
<http://www.sepeap.es/libros/farreras13/SECCION/APE.pdf>
- Serra Majem, L. Aranceta Bartrina, J. (2004). *Nutrición infantil y juvenil*. Barcelona: Masson.
- Serra Majem, L.; Ngo de la Cruz, J. (2002). ¿Qué es la Dieta Mediterránea? Barcelona: Nexos Ediciones.
- Serra Majem, L.; Ribas Barba, L.; García Closas, R.; Pérez Rodrigo, C.; Aranceta Bartrina, J. (2000). Cereales de desayuno y estado nutricional: contribución de los cereales del desayuno a la nutrición de los niños y jóvenes españoles. En L. Serra Majem, J. Aranceta Bartrina (Eds.), *Desayuno y equilibrio alimentario* (cap. 6). Barcelona: Masson.
- Serra Majem, L.; Ribas Barba, L.; García Closas, R.; Pérez Rodrigo, C.; Peña Quintana, L.; Aranceta Bartrina, J. (2002). Hábitos alimentarios y consumo de alimentos en la población infantil y juvenil española (1998-2000): variables socioeconómicas y geográficas. En L. Serra Majem, J. Aranceta Bartrina (Eds.), *Alimentación infantil y juvenil* (cap.2). Barcelona: Masson.
- Serra Majem, L.; Ribas Barba, L.; Pérez Rodrigo, C., Aranceta Bartrina, J. (2004b). Ingesta de energía y nutrientes en la población infantil y juvenil española: variables socioeconómicas y geográficas. En L. Serra Majem, J. Aranceta Bartrina (Eds.), *Nutrición infantil y juvenil* (cap. 3). Barcelona: Masson.

- Serra-Majem, L.; Aranceta Bartrina, J.; Pérez-Rodrigo, C.; Ribas-Barba, L.; Delgado-Rubio, A. (2006b). Prevalence and determinants of obesity in Spanish children and young people. *British Journal of Nutrition* 96, 67-72.
- Serra-Majem, L.; García-Closas, R.; Ribas, L.; Pérez-Rodrigo, C. Y Aranceta, J. (2001). Food patterns of Spanish schoolchildren and adolescents: the enKid study. *Public Health Nutrition* 4, 1433-1438.
- Serra-Majem, L.; Ribas, L.; Ngo, J.; Ortega, R.M.; García, A.; Pérez-Rodrigo, C.; Aranceta, J. (2004a). Food, youth and the Mediterranean diet in Spain. Development of KIDMED, Mediterranean Diet Quality Index in children and adolescents. *Public Health Nutrition* 7, 931-935.
- Serra-Majem, L.; Ribas-Barba, L.; Pérez-Rodrigo, C.; Aranceta Bartrina, J. (2006). Nutrient adequacy in Spanish children and adolescents. *British Journal of Nutrition* 96, 49-57.
- Sgarbieri, V.C.; Amaya, J.; Tanaka, M. y Chichester, C.O. (1973). Nutritional consequences of the Maillard Reaction. Amino acid availability from fructose-leucine and fructose-tryptophan in the rat. *Journal of Nutrition* 103, 657-663.
- Shafir, T.; Angulo-Barroso, R.; Calatroni, A.; Jiménez, E.; Lozoff, B. (2006). Effects of iron deficiency in infancy on patterns of motor development over time. *Human Movement Science* 25, 821-838.
- Shamah, T.; Villalpando, S. (2006). The role of enriched foods in infant and child nutrition. *British Journal of Nutrition* 96, 73-77.
- Shu, C.K.; Lawrence, B.M. (1994). Temperature effects on the volatiles formed from the reaction of glucose and ammonium hydroxide: a model system study. En T.P. Labuza, G.A. Reineccius, V. Monnier, J. O'Brien, J. Baynes (Eds.), *Maillard Reaction in Chemistry, Food and Health*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry.

- Simonato, B.; Pasini, G.; Giorato, M.; Spettoli, P.; Curioni, A. (2002). Effect of cooking on in vitro protein digestibility of bread dough. *Tecnica-Molitoria* 53, 1118-1126.
- Skinner, J.D.; Bounds, W.; Carruth, B.R.; Ziegler, P. (2003). Longitudinal calcium intake is negatively related to children's body fat indexes. *Journal of the American Dietetic Association* 103, 1626-1631.
- Smart, E.J.; Gilchrist, N.L.; Turner, J.G.; March, R.L.; Maguire, P.; Frampton, C.M. (1997). A follow up study on teenage girls dietary intake, attitude toward dairy products and bone mineral density on year after the cessation of dairy product food supplement. SERONO Symp. 3rd Int. Symp. on Nutritional Aspects of Osteoporosis p 11. Lausanne, Switzerland May 22-24.
- Smith, N.J.; Rios, E. (1974). Iron metabolism and iron deficiency in infancy and childhood. *Advances in Pediatrics* 21, 239-280.
- Somoza, V. (2005). Five years of research on health risks and benefits of Maillard reaction products: An update. *Molecular Nutrition and Food Research* 49, 663-672.
- Somoza, V.; Wenel, E.; Lindenmeier, M.; Grothe, D.; Arsbersdobler, H.F.; Hoffmann, T. (2005). Influence of feeding malt, bread crust, and a pronylated protein on the activity of chemopreventive enzymes and antioxidant defense in vivo. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 8176-8182.
- South, P.K.; Lei, X.; Miller, D.D. (2000). Meat enhances nonheme iron absorption in pigs. *Nutrition Research* 20, 1749-1759.
- Spodaryk, K. (1999). Disparity between dietary iron intake and iron status of children aged 10-12 years. *Archives of Physiology and Biochemistry* 107, 361-366.
- Starvic, B.; Matula, T.I.; Klassen, R.; Downie, R.H. (1995). Evaluation of hamburguers and hot dogs for the presence of mutagens. *Food and Chemical Toxicology* 33, 815-820.

- Stegink, L.D.; Freeman, J.B.; Den Besten, L.; Filer, L.J. (1981). Maillard Reaction Products in parenteral nutrition. *Progress in Food and Nutrition Science* 5, 265-268.
- Stegink, L.D.; Pitkin, R.M. (1976). Placental transfer of glucose-amino acid complexes present in parenteral solutions. *The American Journal of Clinical Nutrition* 30, 1087-1092.
- Stegink, L.D.; Pitkin, R.M.; Reynolds, W.; Filer, L.J.; Boaz, D.P.; Brummel, M.C. (1975). Placental transfer of glutamate and its metabolites in the primate. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 122, 70-78.
- Stitt, A.W. (2005). The Maillard reaction in eye diseases. *Annals New York Academy of Sciences* 1043, 582-597.
- Stitt, A.W.; Bucala, R.; Vlassara, H. (1997). Atherogenesis and advanced glycation: promotion, progression, and prevention. *Annals of the New York Academy of Science* 811, 115-127.
- Stitt, A.W.; Hughes, S.J.; Canning, P.; Lynch, O.; Cox, O.; Frizzell, N.; Thorpe, S.R.; Cotter, T.G.; Curtis, T.M.; Gardiner, T.A. (2004). Substrates modified by advanced glycation endproducts cause dysfunction and death in retinal pericytes by reducing survival signals mediated by platelet-derived growth factor. *Diabetologia* 47, 1735–1746.
- Stitt, A.W.; Jenkins, A.J.; Cooper, M.E. (2002). Advanced glycation end products and diabetic complications. *Expert Opinion on Investigational Drugs* 11, 1205-1223.
- Story, M. (1994). Requerimientos nutricionales durante la adolescencia. En E.R. McArdney, R.E. Kreipe, D.P. Orr, G.D. Comerci (Eds.), *Medicina del adolescente*. Buenos Aires: Médica Panamericana.
- Story, M.; Stang, J. (2005). Nutrition needs of adolescents. En J. Stang, M. Story (Eds.), *Guidelines for Adolescent Nutrition Service*. Disponible en: http://www.epi.umn.edu/let/pubs/adol_book.shtm

- Subar, A.F.; Krebs-Smith, S.M.; Cook, A.; Kahle, L.L. (1983). Dietary sources of nutrients among US children, 1989-1991. *Pediatrics* 102, 913-923.
- Sugimura, T.; Nagao, M. (1979). Mutagenic factors in cooked foods. *Critical Reviews in Toxicology* 6, 189-209.
- Sulkers, E.J.; Lafeber, H.N.; Degenhart, H.J.; Lindemans, J.; Sauer, P.J. (1992). Comparison of two preterm formulas with or without addition of medium-chain triglycerides (MCTs). II: effects on mineral balance. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 15, 42-47.
- Suortti, T.; Malkki, Y. (1984). Antimicrobial activities of heated glucose and fructose solutions and their elucidation by high performance liquid chromatography. *Food Chemistry* 15, 165-173.
- Swanson, C.A. (2003). Iron intake and regulation: implications for iron deficiency and iron overload. *Alcohol* 30, 99-102.
- Szulc, P.; Seeman, E.; Delmas, P.D. (2000). Biochemical measurements of bone turnover in children and adolescents. *Osteoporosis International* 11, 281-294.
- Takeuchi, M.; Makita, Z.; Bucala, R.; Suzuki, T.; Koike, T.; Kameda, Y. (2000). Immunological evidence that non-carboxymethyllysine advanced glycation end products are produced from short chain sugars and dicarbonyl compounds in vivo. *Molecular Medicine* 6, 114-125.
- Tanner, J.M.; Davies, P.S.W. (1985). Clinical longitudinal standards for height and height velocity for North American children. *The Journal of Pediatrics* 107, 317-329.
- Tanner, J.M.; Whitehouse, R.H. (1976). Clinical longitudinal standard for height, weight, height velocity and stages of puberty. *Archives of Disease in Childhood* 51, 170-179.
- Tapiero, H.; Gate, L.; Tew, K.D. (2001). Iron: deficiencies and requirements. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 55, 324-332.

- Tessier, F.J.; Gadonna-Widehem, P.; Laguerre, J.C. (2006). The fluorimetric FAST method, a simple tool for the optimization of microwave pasteurization of milk. *Molecular Nutrition and Food Research* 50, 793-798.
- Tetens, I.; Larsen, T.M.; Kristensen, M.B.; Hels, O.; Jensen, M.; Morberg, C.M.; Thomsen, A.D.; Hojgaard, L.; Henriksen, M. (2005). The importance of dietary composition for efficacy of iron absorption measured in a whole diet that includes rye bread fortified with ferrous fumarate: a radioisotope study in young women. *British Journal of Nutrition* 94, 720-726.
- Teucher, B.; Olivares, M.; Cori, H. (2004). Enhancers of iron absorption: ascorbic acid and other organic acids. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research* 74, 403-419.
- Theuer, J.; Kemmerer, K.S.; Martin, W.H.; Zoumas, B.L. y Sarett, H.P. (1971). Effects of processing on availability of iron salts in liquid infant formula products. Experimental soy isolate formulas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 19, 555-558.
- Theuer, R.C.; Martin, W.H.; Wallander, J.F.; Sarett, H.P. (1973). Effects of processing on availability of iron salts in liquid infant formula products. Experimental milk-based formulas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 21, 482-485.
- Thompsen, K.; Riis, B.; Krabbe, S.; Christiansen, C. (1986). Testosterone regulates the haemoglobin concentration in male puberty. *Acta Paediatrica Scandinavica* 75, 793-796.
- Thorpe, S.E.; Baynes, J.W. (2002). CML: A brief history. *International Congress Series* 1245, 91-99.
- Thulesius, O. (2004). Human exposures to acrylamide are below the threshold for carcinogenesis. *Human and experimental toxicology* 23, 357-358.
- Toba, Y.; Kajita, Y.; Masuyama, R.; Takada, Y.; Suzuki, K.; Aos, S. (2000). Dietary magnesium supplementation affects bone metabolism and dynamic

- strenght of bone in ovariectomized rats. *The Journal of Nutrition* 130, 216-220.
- Tojo Sierra, R.; Leis Trabazo, R. (2003). Estrategias para la prevención y tratamiento del exceso de peso y la obesidad. *Boletín de la Sociedad de Pediatría de Asturias, Cantabria, Castilla y León* 43, 171-188.
- Tojo, R., Leis, R.; Queiro, T. (1991). Nutrición en el adolescente. Factores de riesgo biopsicosociales. *Anuales Españoles de Pediatría* 35, 74-83.
- Tomchick, D.R.; Cymborowski, M.; Minor, W.; Holman, T.R. (2001). Structural and functional characterization of second coordination sphere mutans of soyabean lipoxygenase. *Biochemistry* 40, 7509-7515.
- Tondeur, M.C.; Schauer, C.S.; Christofides, A.L.; Asante, K.P.; Newton, S.; Serfass, R.E.; Zlotkin, S.H. (2004). Determination of iron absorption from intrinsically labeled microencapsulated ferrous fumarate (sprinkles) in infants with different iron isotope method. *The American Journal of Clinical Nutrition* 80, 1436-1444.
- Toverud, S.U.; Anderson, J.J.B.; Garner, S.C. (1996). Viatamin D. En J.B. John (Ed.), *Calcium and Phosphorus in Health and Disease*. Florida: CRC Press.
- Tremaine, W.J.; Newcommer, A.D.; Riggs, L.; McGill, G.B. (1986). Calcium absorption from milk in lactase deficient and lactase sufficient adults. *Digestive Diseases and Sciences* 31, 376-378.
- Trichopoulou, A. (2006). Dieta Mediterránea y salud. *Public Health Nutrition* 9, 56.
- Trichopoulou, A.; Vasilopoulou, E. (2000). Mediterranean diet and longevity. *British Journal of Nutrition* 84, 205-209.
- Trinidad, T.P.; Wolever, T.M.; Thompson, L.U. (1996). Effect of acetate and propionate on calcium absorption from the rectum and distal colon of humans. *The American Journal of Clinical Nutrition* 63, 574-578.

- Tseng, M.; Chakraborty, H.; Robinson, D.T.; Mendez, M.; Mohlmeier, L. (1997). Adjustment of iron intake for dietary enhancers and inhibitors in population studies: bioavailable iron in rural and urban residing russian women and children. *The Journal of Nutrition* 127, 1456-1468.
- Tucker, K.; Hannan, M.; Kiel, D. (2001). The acid-base hypothesis: diet and bone in the Framingham osteoporosis study. *European Journal of Nutrition* 40, 231-237.
- Tucker, K.L. (2003). Does milk intake in childhood protect against later osteoporosis? *The American Journal of Clinical Nutrition* 77, 10-11.
- Tur, J.A.; Romaguera, D.; Pons, A. (2004). Food consumption patterns in a mediterranean region: does the mediterranean diet still exists? *Annals of Nutrition and Metabolism* 48, 193-201.
- Tylavsky, F.A.; Holliday, K.; Danish, R.; Womack, C.; Norwood, J.; Carbone, L. (2004). Fruit and vegetable intakes are an independent predictor of bone size in early pubertal children. *The American Journal of Clinical Nutrition* 79, 311-317.
- U.S. Department of Health and Human Services (2004). Dietary intake of selected minerals for the United States Population: 1999-2000. *Advance Data* 341, 1-5.
- Urbano, M.R.D.; Vitalle, M.S.S.; Juliano, Y.; Amanco, O.M.S. (2002). Iron, copper and zinc in adolescents during pubertal growth spurt. *Journal de Pediatria* 78, 327-334.
- Uribarri, J.; Peppas, W.; Goldberg, T.; Lu, M.; He, C.; Vlassara, H. (2003). Restriction of dietary glycotoxins reduces excessive advanced glycation end products in renal failure patients. *Journal of the American Society of Nephrology* 14, 728-731.
- Valle-Riestra, J.; Barnes, R.H. (1969). Digestion of heat-damaged egg albumen by the rat. *The Journal of Nutrition* 100, 873-882.

- Valls-Belles, V.; Torres, M.C.; Muñiz, P.; Boix, L.; González-Sanjose, M.L.; Codoner-Franch, P. (2004). The protective effect of melanoidinas in adriamicyn-induced oxidative stress in rat isolated hepatocytes. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 84, 1701-1707.
- Valtueña, S.; Sette, S.; Branca, F. (2001). Influence of Mediterranean Diet and Mediterranean lifestyle on calcium and bone metabolism. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research* 71, 189-202.
- Van Boekel, M.A.J.S. (2006). Formation of flavour compounds in the Maillard reaction. *Biotechnology Advances* 24, 230-233.
- Van den Heuvel, E.; Muys, T.; van Dokkum, W.; Schaafsma, G. (1999). Oligofructose stimulates calcium absorption in adolescents. *The American Journal of Clinical Nutrition* 69, 544-548.
- Varela, G.; Moreiras, O.; Carbajal, A.; Campo, M. (1995). Encuesta de presupuestos familiares 1990-91. Estudio Nacional de Nutrición y Alimentación 1991. Universidad Complutense de Madrid: Ed. Instituto Nacional de Estadística.
- Varela, P.; Arce, M.M.; Marcos, A.; Castrillón, A.M. (1997). Immunocompetence in relation to a heat-processed diet (Maillard reaction) in weanling rats. *British Journal of Nutrition* 77, 947-956.
- Vatanparast, H.; Baxter-Jones, A.; Faulkner, R.A.; Bailey, D.A.; Whiting, S.J. (2005). Positive effects of vegetable and fruit consumption and calcium intake on bone mineral accrual in boys during growth from childhood to adolescence: the University of Saskatchewan Pediatric Bone Mineral Accrual Study. *The American Journal of Clinical Nutrition* 82, 700-706.
- Vatanparast, H.; Lo, E.; Henrt, C.J.; Whiting, S.J. (2006). A negative trend in calcium was accompanied by a substitution of milk by noncarbonated soft drinks in Canadian female students. *Nutrition Research* 26, 325-329.

- Viglietti, G.C.; Skinner J.D. (1987). Estimation of iron bioavailability in adolescents' meals and snacks. *Journal of the American Dietetic Association* 87, 903-907.
- Vilaplana, M. (2006). Errores alimentarios. *Offarm* 25, 73-80.
- Villa Elízaga, I.; Navarro Blasco, I.; Martín Pérez, A. (1999). Elementos trazas. En M. Hernández, A. Sastre (Eds.), *Tratado de Nutrición*. Madrid: Ediciones Díaz de Santos.
- Vitali, D.; Vedrinaro Dragojevic, I.; Sebecic, B.; Vujic, L. (2007). Impact of modifying tea biscuit composition on phytate levels and iron content and availability. *Food Chemistry* 102, 82-89.
- Vlassara, H. (1996). Advanced glycosylation in nephropathy of diabetes and aging. *Advances in Nephrology from the Necker Hospital* 25, 303-307.
- Vlassara, H. (2000). Intervening in atherogenesis: lessons from diabetes. *Hospital Practice* 35, 25-27, 32, 35-39.
- Vlassara, H.; Brownlee, M.; Cerami, A. (1984). Accumulation of diabetic rat peripheral nerve myelin by macrophages increases with the presence of advanced glycosylation endproducts. *The Journal of Experimental Medicine* 160, 197-207.
- Vlassara, H.; Cai, W.; Crandall, J.; Goldberg, T.; Oberstein, R.; Dardaine, V.; Peppas, M.; Rayfield, E.J. (2002). Inflammatory mediators are induced by dietary glycotoxins, a major risk for diabetic angiopathy. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 45, 1-12.
- Walczyk, T.; Davidsson, L.; Rossander-Hulthen, L.; Hallberg, L.; Hurrell, R.F. (2003). No enhancing effect of vitamin A on iron absorption in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition* 77, 144-149.
- Wangen, K.E.; Duncan, A.M.; Merz-Demlow, B.E.; Xu, X.; Marcus, R.; Phipps, W.R.; Kurzer, M.S. (2000). Effects of soy isoflavones on markers of bone

- turnover in premenopausal and postmenopausal women. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 85, 3043-3048.
- Warmbier, H.C.; Schnickles, R.A.; Labuza, T.P. (1976). Effect of glycerol on non-enzymatic browning in a solid intermediate moisture model food system. *Journal of Food Science* 41, 528-531.
- Washington, N.; Harris, M.; Mussellwhite, A.; Spiller, R.C. (1998). Moderation of lactulose-induced diarrhea by psyllium: effects on motility and fermentation. *The American Journal of Clinical Nutrition* 67, 317-321.
- Wastney, M.E.; Martin, B.R.; Peacock, M.; Smith, D.; Jiang, X.Y.; Jackman, L.A.; Weaver, C.M. (2000). Changes in calcium kinetics in adolescent girls Induced by High Calcium Intake. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 85, 4470-4475.
- Wauben, I.P.M.; Atkinson, S.A. (1999). Calcium does not inhibit iron absorption or alter iron status in infant piglets adapted to a high calcium diet. *The Journal of Nutrition* 129, 707-711.
- Wautier, J.L.; Guillausseau, P.J. (1998). Diabetes, advanced glycation end products and vascular disease. *Vascular Medicine* 3, 131-137.
- Weaver, C.M. (1994). Age related calcium requirement due to changes in absorption and utilization. *The Journal of Nutrition* 124, 1418-1425.
- Weaver, C.M. (2000). The growing years and prevention of osteoporosis in later life. *Proceedings of the Nutrition Society* 59, 303-306.
- Weaver, C.M. (2006). Back to basics: have milk with meals. *Journal of the American Dietetic Association* 106, 1756-1758.
- Weaver, C.M.; Hauney, R.P.; Prouly, W.R. (1999). Choices for achieving adequate dietary calcium with a vegetarian diet. *The American Journal of Clinical Nutrition* 70, 534-538.

- Weaver, C.M.; Liebman, M. (2002). Biomarkers of bone health appropriate for evaluating functional foods designed to reduce risk of osteoporosis. *British Journal of Nutrition* 88, 225-232.
- Weaver, C.M.; Martin, B.R.; Plawecki, K.L.; Peacock, M.; Wood, O.B.; Smith, D.L.; Wastney, M.E. (1995). Differences in calcium metabolism between adolescent and adult females. *The American Journal of Clinical Nutrition* 61, 577-581.
- Wedzicha, B.L. (1984). Chemistry of sulphur dioxide in foods. London: Elsevier.
- Weinsier, R.L.; Krumdieck, C.L. (2000). Dairy foods and bone health: examination of the evidence. *The American Journal of Clinical Nutrition* 72, 681-689.
- Weisinger, J.R.; Bellorin-Font, E. (1998). Magnesium and phosphorus. *Lancet* 352, 391-396.
- Welch, T.R.; Abrams, S.A.; Shoemaker, L.; Yergey, A.L.; Vieri, N.; Stuff, J.E. (1995). Precise determination of the absorptive component of urinary calcium excretion using stable isotopes. *Pediatric Nephrology* 9, 295-297.
- Wenzel, E., Tasto, S., Erbersdobler, H. F., Faist, V. (2002). Effect of heat-treated proteins on selected parameters of the biotransformation system in the rat. *Annals of Nutrition and Metabolism* 46, 9-16.
- Weon Choi, J. (2003). Serum transferrin receptor concentrations correlate more strongly with red cell indices than with iron parameters in iron deficient adolescents. *Acta Haematologica* 110, 213-216.
- Whitelaw, M.L.; Weaver, M.L. (1988). Maillard Browning Effects on in vivo availability of zinc. *Journal of Food Science* 53, 1508-1510.
- Whiting, S.J.; Anderson, D.J.; Weeks, S.J. (1997). Calciuric effects of protein and potassium bicarbonate but not of sodium chloride or phosphate can be detected acutely in adult women and men. *The American Journal of Clinical Nutrition* 65, 1465-1472.

- Whiting, S.J.; Vatanparast, H.; Baxter-Jones, A.; Faulkner, R.A.; Mirwald, R.; Bailey, D.A. (2004). Factors that affect bone mineral accrual in the adolescent growth spurt. *The Journal of Nutrition* 134, 696-700.
- WHO (World Health Organisation) (1985). Energy and protein requirements. Report of a Joint FAO/WHO/UNU. Expert Consultation. Technical Report Series 724. Ginebra, 206.
- Whysak, G.; Frisch, R.E. (1994). Carbonated beverages, dietary calcium, the dietary calcium/phosphorus ratio, and bone fractures in girls and boys. *The Journal of the Adolescent Health* 15, 210-215.
- Wienk, K.J.; Marx, J.J.; Beynen, A.C. (1999). The concept of iron bioavailability and its assessment. *European Journal of Nutrition* 38, 51-75.
- Wijewickreme, A.N.; Kitts, D.D. (1998). Modulation of metal-induced genotoxicity by Maillard Reaction Products isolated from coffee. *Food and Chemical Toxicology* 36, 543-553.
- Wijewickreme, A.N.; Krejpcio, Z.; Kitts, D.D. (1999). Hydroxyl scavenging activity of glucose, fructose and ribose-lysine model Maillard products. *Journal of Food Science* 64, 457-461.
- Wijewickreme, N.A.; Kitts, D.D. (1998). Metal chelating and antioxidant activity of model Maillard Reaction Products. En Shahidi (Ed.), *Process-Induced Chemical Changes in Food*. New York: Plenum Press.
- Williamson, D.H. (1987). Brain substrates and the effects on nutrition. *The Proceedings of the Nutrition Society* 46, 81-87.
- Wolfrom, M.L.; Kashimura, N.K.; Horton, D. (1974). Factors affecting the Maillard browning reaction between sugars and amino acids. Studies on the nonenzymatic browning of dehydrated orange juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 22, 796-800.

- Wolfrom, M.L.; Kolb, D.K.; Langer, A.W. (1953). Chemical interactions of amino compounds and sugars. VII. pH dependency. *Journal of the American Chemical Society* 75, 3471-3473.
- Wolfrom, M.L.; Rooney, C.S. (1953). Chemical interactions of amino compounds and sugars. VIII. Influence of water. *Journal of the American Chemical Society* 75, 5435-5436.
- Wollenberg, P.; Rummel, W. (1987). Dependence of intestinal iron absorption on the valency state of iron. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 336, 578-582.
- Wong, N.L.M.; Quamme, G.A.; Sutton, R.A.L.; Dirks, J.H. (1985). Effect of phosphate and calcium infusion on renal phosphate and calcium transport in the dog. *Renal Physiology* 8, 30-37.
- Wood, R.J. (2000). Searching for the determinants of intestinal calcium absorption. *The American Journal of Clinical Nutrition* 72, 675-676.
- Yamamoto, T.; Ozono, K.; Miyauchi, A.; Kasayama, S.; Kojima, Y.; Shima, M.; Okada, S. (2001). Role of advanced glycation end products in adynamic bone disease in patients with diabetic nephropathy. *American Journal of Kidney Diseases* 38, 161-164.
- Yan, L.; Prentice, A.; Diva, B.; Jarjou, L.M.A.; Stirling, D.M.; Fairweather-Tait, S. (1996). The effect of long-term calcium supplementation on indices of iron, zinc and magnesium status in lactating Gambian women. *British Journal of Nutrition* 76, 821-831.
- Yan, S.D.; Chen, X.; Schmidt, A.M.; Brett, J.; Godman, G.; Zou, Y.S., Scott, C.W.; Caputo, C.; Frappier, T.; Smith, M.A.; Perry, G.; Yen, S.H.; Stern, D. (1994). Glycated tau protein in Alzheimer disease: a mechanism for induction of oxidant stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91, 7787-7791.

- Yanga, S.; Litchfielda, J.E.; Baynes, J.W. (2003). Age-breakers cleave model compounds, but do not break Maillard crosslinks in skin and tail collagen from diabetics rats. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 412, 42-46.
- Yeboah, F.K.; Alli, I.; Yaylayan, V.A. (1999). Reactivities of D-glucose and D-fructose. during glycation of bovine serum albumin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47, 3164-3172.
- Yen, G.C.; Tsai, L.C.; Lii, J.D. (1992). Antimutagenic effect of Maillard browning products obtained from amino acids and sugars. *Food and Chemical Toxicology* 30, 127-132.
- Yip, R.; Parvanta, I.; Cogswell, M.E.; McDonnell, S.M.; Bowman, B.A.; Gurrmer-Strawn, L.M.; Trowbridge, F. (1998). Recommendations to prevent and control iron deficiency in the United States. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 47, 1-29.
- Yoshimura, Y.; Iijima, T.; Watanabe, T.; Nakazawa, H. (1997). Antioxidative effect of Maillard reaction products using glucose-glicina model system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45, 4106-4109.
- Yu, J.Y.; Cho, Y.O. (1990). Tissue iron content in riboflavin and pyridoxine deficient rats. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 1, 310-314.
- Yuan, Y.V.; Kitts, D.D. (1994). Calcium absorption and bone utilization in spontaneously hypertensive rats fed on native and heat-damaged casein and soya-bean protein. *British Journal of Nutrition* 71, 583-603.
- Zamora, R.; Hidalgo, F.J. (1995). Linoleic acid oxidation in the presence of amino compounds produces pyrroles by carbonyl amine reactions. *Biochimica et Biophysica Acta* 1258, 319-327.
- Zanardi, E.; Novelli, E.; Ghiretti, G.P.; Chizzolini, R. (2000). Oxidative stability of lipids and cholesterol in Salame milano, coppa and parma ham: dietary supplementation with vitamin E and oleic acid. *Meat Science* 55, 169-175.

Zheng, F.; He, C.; Cai, W.; Hattori, M.; Steffes, M.; Vlassara, H. (2002). Prevention of diabetic nephropathy in mice by a diet in glycoxidation products. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews* 18, 224-237.

Ziderman, I.I.; Friedman, M. (1985). Thermal and compositional changes of dry wheat gluten-carbohydrate mixtures during simulated crust baking. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 33, 1096-1102.