

Utilización del cobre en dietas hipograsas

By M. Aguirre y M.^a P. Navarro*

Instituto de Nutrición y Bromatología. C.S.I.C.- U.C.M. Madrid

RESUMEN

Utilización del cobre en dietas hipograsas

Se propuso estudiar la influencia del consumo de dietas pobres en grasa a base de aceite de oliva, girasol o aceite de palma (fracción oleína) sobre la utilización del cobre dietético por dos técnicas diferentes de balance, así como sobre sus contenidos corporales. Se utilizaron siete grupos de ratas Wistar, uno de ellos sacrificado el día primero del experimento, sirvió como control del contenido cúprico corporal inicial; seis grupos de ratas fueron alimentadas durante 15 días con dietas semisintéticas, tres de ellos con las grasas al 8% y los otros tres al 2%. En ellos se estudió el balance global del cobre mediante diferencia entre los contenidos corporales iniciales y finales del elemento y en la última semana por control de la ingesta y la excreción fecal del micronutriente. Se controló también el peso y los contenidos de cobre en carcasa, hígado, bazo, piel, eritrocitos y suero.

Las dietas hipograsas mermaron la utilización del cobre mediante una disminución de su ingesta y también por deterioro de la biodisponibilidad del elemento en ellas. Se deprimió su contenido corporal total, el del bazo y el del hígado y las concentraciones en este último órgano, en la piel y en el suero.

El aceite de palma (fracción oleína) (8%), frente a los otros dos, produjo un descenso en la digestibilidad del cobre.

PALABRAS-CLAVE: Aceite de girasol – Aceite de oliva – Aceite de palma – Biodisponibilidad – Cobre – Dieta hipograsa.

SUMMARY

Copper utilization in low fat diets.

The objective of this study was to investigate both the dietary copper utilization and the body copper content in rats fed either low fat diets (2%) or normal fat diets (8%) containing olive oil, sunflower oil and palm oil (olein fraction), by two different balance techniques.

Seven groups of Wistar rats were used. One group was killed on the first experimental day, being utilized as control of initial body copper content. Six groups of rats were fed, over 15 days, semipurified diets varying only in the fat level, three of them containing 8% of fat, and the other three 2%. The overall copper balance was studied by calculating differences between the initial and final body copper content. During the last week, another copper balance was carried out by monitoring intake and faecal

copper excretion. Body mass, and liver, spleen, skin, erythrocytes and serum copper contents were also examined.

The copper utilization was lower in 2% fat rats, this was caused by food intake decrease but also by the lower copper bioavailability in 2% fat diets. The corporal, liver and spleen copper contents were reduced, and liver, skin and serum copper concentrations also decreased in the rats fed on 2% fat diets.

Palm olein (8%) versus olive and sunflower oil produced a lower efficiency of copper absorption.

KEY-WORDS: Bioavailability – Copper – Low-fat diet – Olive oil – Palm oil – Sunflower oil.

1. INTRODUCCIÓN

La relación que se establece entre la cantidad y calidad de la grasa con los minerales es muy compleja, poco conocida y diferente para los distintos elementos. Se ha descrito que los minerales influyen en el metabolismo de la grasa (Speckmann *et al.*, 1967) y viceversa. Dicha interacción depende del tipo de grasa (Kies, 1988), de la cantidad (Amine *et al.*, 1975), del grado de saturación y de cada ácido graso en concreto (Navarro *et al.*, 1985); y es específica para cada mineral tanto a nivel digestivo como metabólico (Bowering *et al.*, 1977).

Los componentes de la digestión de los nutrientes que aparecen en el lumen intestinal pueden alterar la biodisponibilidad mineral. Durante la hidrólisis de los triglicéridos, los ácidos grasos liberados y ligados por las micelas pueden interaccionar con los elementos minerales (Friedman *et al.*, 1980; Shiau, 1981). Lípidos dietéticos, monoglicéridos, y ácidos grasos libres pueden alterar la permeabilidad de la membrana celular por interacción con la parte hidrofóbica (Ammon *et al.*, 1977; Thomson *et al.*, 1986). Además, las grasas saponificadas son capaces de actuar como detergentes y modifican la absorción de los elementos.

El efecto de la cantidad y calidad de la grasa alimentaria sobre la utilización mineral es complejo y poco estudiado. Y sin embargo, esta interacción, hoy más que nunca, adquiere importancia, al considerar el hecho de que los expertos en nutrición están recomendando una disminución en la ingesta total de

* Dirección actual:
Estación Experimental del Zaidín, C/. Prof. Albareda, 1. 18008 Granada.

grasa, especialmente de la saturada, e inclinando hacia el consumo de las grasas insaturadas y monoinsaturadas en las sociedades desarrolladas con el fin de evitar enfermedades cardiovasculares, ciertos tipos de cáncer, etc. Todo ello conlleva una serie de cambios en los lípidos dietéticos que de modo indirecto pueden afectar a la utilización de los minerales, y pone de manifiesto la importancia actual de un estudio acerca de la interacción grasa-mineral y de las repercusiones que pueden seguirse sobre la biodisponibilidad de estos micronutrientes.

Por lo que al cobre se refiere la información existente es sumamente escasa. Parece que las dietas muy ricas en grasa disminuyen los niveles séricos del elemento, pero además, si a la dieta hipergrasa se aúna el déficit de cobre, todo ello se traduce en reducción del crecimiento, del metabolismo energético, de la disponibilidad de sustratos para la síntesis de nucleótidos, etc. (Wapnir y Devas, 1995). Por el contrario, poco o nada se sabe del efecto de dietas hipograsas, ni de la influencia de los distintos lípidos alimentarios sobre la biodisponibilidad del cobre.

Por ello se planteó estudiar si el consumo de dietas hipograsas modifica la utilización del cobre o altera sus concentraciones tisulares, analizando, además, si el posible efecto era dependiente del tipo de grasa empleada.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Preparación de dietas

Se prepararon seis dietas semisintéticas de acuerdo con las recomendaciones del National Research Council (1978) para la rata que diferían entre sí en el tipo de aceite y cantidad del mismo. Así la fuente grasa fue: aceite puro de oliva de 0,4° de acidez (Carbonell, Córdoba), aceite de girasol de 0,2° de acidez «Elosol» (Elosua, León) y aceite de palma, (fracción oleína) (A.G.R.A., S.A., Bilbao), utilizados en las proporciones de 8% y 2%. Los demás componentes de las dietas fueron: almidón de trigo (Central Ibérica de Drogas,

S.A., Madrid), sacarosa (Confisa, S.A., Madrid), celulosa microcristalina (Central Ibérica de Drogas, S.A., Madrid), caseína láctica (Central Ibérica de Drogas, S.A., Madrid), DL-metionina (Merck, Darmstadt, Alemania), complemento vitamínico (Roche, Base, Suiza) y complemento mineral (Merck, Darmstadt, Alemania) cuya composición se recoge en el Esquema 1.

Esquema 1

Composición Corrector Mineral (mg/100 dieta)

Ioduro potásico	0,021
Sulfato de cobre 5 H ₂ O	2,472
Fluoruro sódico	0,243
Sulfato de magnesio H ₂ O	16,920
Sulfato ferroso 7 H ₂ O	19,904
Cloruro sódico	90,630
Carbonato magnésico	88,680
Sulfato de magnesio 7 H ₂ O	225
Fosfato ácido de calcio	680
Fosfato monopotásico	820
Fosfato monosódico H ₂ O	260,42
Carbonato de calcio	1000
Carbonato de zinc	2,556
Bicarbonato potásico	610,343
Cromato sódico	0,11
Selenito de sodio 5 H ₂ O	0,0365
Oxido de zinc	1,7892

En el caso de las dietas hipograsas el déficit fue suplido por la mezcla de almidón, sacarosa, celulosa y proteína, según la proporción empleada para la preparación de las dietas. Queda, por tanto, patente que se trata de dietas con distinto contenido calórico y lipídico; dietas al 8% de grasa: 407% kcal/100g, dietas al 2% de grasa: 375 kcal/100g, pero con iguales concentraciones de minerales.

Esquema 2

Formulación de las dietas (g/100g sustancia seca)

DIETAS	ACEITE	CASEÍNA + DL-METIONINA	CELULOSA	ALMIDÓN	AZÚCAR	CORRECTOR	
						VITAMIN.	MINERAL
OLIVA GIRASOL PALMA	8	11.80+0.2	5.00	35.51	35.51	0.16	3.82
OLIVA GIRASOL PALMA	2	12.61+0.2	5.34	37.94	37.94	0.16	3.82

Se preparó una mezcla con todos los componentes en las proporciones idóneas para la dieta normograsa (esquema 2), excepto la fuente grasa, posteriormente se dividió en seis porciones, a tres de ellas se les adicionó directamente cada una de las grasas objeto del estudio en la proporción del 8%. A las otras tres se les añadió cada una de las grasas objeto del estudio al 2%, más un 6% de la mezcla de exclusivamente los macronutrientes (sin grasa) según las proporciones descritas para la mezcla base.

La composición en cobre de las seis dietas ($\mu\text{g/g}$) [determinado por espectrofotometría de absorción atómica] fue $11,29 \pm 0,91$. [media \pm desviación estándar de la media] de seis determinaciones por dieta.

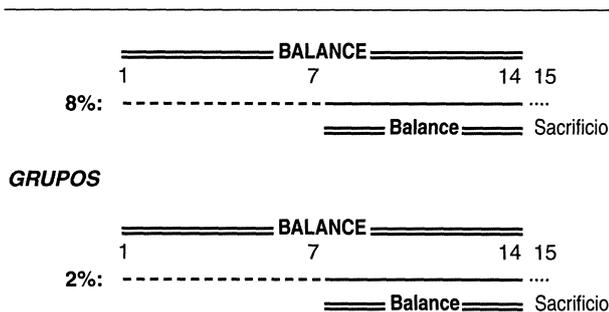
2.2. Ensayos biológicos

Los ensayos biológicos de balances de cobre se realizaron en ratas Wistar de nuestro criadero, seleccionadas en el momento del destete, con un peso inicial de $40 \pm 0,3\text{g}$, los grupos estaban constituidos por 10 animales, 5 machos y 5 hembras. Los animales se introdujeron en células metabólicas individuales que permiten la recogida por separado de heces y orina así como la cuantificación de la ingesta. Estas células se alojaron en cámaras termorreguladas a $22 \pm 2^\circ\text{C}$ con una humedad del 50-70% y un fotoperíodo controlado de 12 horas.

El ensayo constó de un periodo experimental de 15 días, durante los cuales se realizó un balance global y otro en la última semana del ensayo, sacrificando a los animales un día después, tras 12 horas de ayuno.

Esquema 3

Desarrollo de los experimentos



Los grupos que tomaron la dieta al 8% de grasa la consumieron *ad libitum* y los hipograsos se sometieron a un régimen de alimentación pareada en el que se les administraban los mismos gramos de alimento que su control con el mismo aceite que había consumido el día anterior, por eso los grupos al 2% comenzaron un día después (Esquema 3).

El balance de cobre se estudió comparativamente siguiendo dos metodologías:

1. Mediante cuantificación de ingesta y recogida de heces, en la última semana del ensayo. Las heces se desecaron, pesaron y homogenizaron y una parte se incineró para el análisis mineral.

Tras 12 horas de ayuno, se sacrificaron los animales, previa anestesia con Nembutal (pentobarbital sódico) al 30% vía intraperitoneal, en dosis de $0.15\text{ml}/100\text{g}$ de peso.

En todos los animales se procedió a la extracción de sangre mediante canulación de la carótida: se separaron hígado, bazo y una porción de piel, que se limpiaron cuidadosamente y se pesaron, así como la carcasa. Todo ello se congeló a -20°C hasta el momento de su análisis. La sangre se centrifugó a 3000 r.p.m. para la obtención del suero. Una vez separado éste, se lavó el precipitado con suero fisiológico y se centrifugó de nuevo a la misma velocidad, operación que se realizó tres veces, para la obtención de los hematíes que posteriormente también se congelaron. La carcasa fue sometida a una hidrólisis ácida con HCl 6N, una vez que la muestra estuvo totalmente digerida se filtró a través de papel Whatman n.º 41 y se llevó a un volumen conocido con agua desionizada.

Los índices determinados fueron calculados a partir de los datos obtenidos por la ingesta y excreción fecal de cobre: absorción aparente de cobre (ingesta de cobre-cobre fecal); coeficiente de digestibilidad aparente (absorción aparente/ingesta $\times 100$) [% A/I].

2. Mediante cuantificación de ingesta y contenido corporal inicial y final de cobre. Lo denominaremos balance global o balance por carcasa. Para obtener el valor del contenido inicial del elemento, el día 1, al comienzo del ensayo un grupo de ratas, 5 machos y 5 hembras al destete y procedentes de la misma camada que las ratas sometidas a estudio, se sacrificaron y analizaron sus contenidos de cobre, se calculó la media y ese valor se utilizó como contenido corporal inicial. El contenido corporal total al final del ensayo se calculó mediante la suma de la cantidad presente en la carcasa, añadida de los valores en los distintos órganos analizados. A partir de los contenidos iniciales y finales se calcularon los siguientes parámetros: retención (contenido de cobre en carcasa en el día 15 - contenido de cobre en el día 1); utilización nutritiva global del nutriente (retención/ingesta $\times 100$) [% R/I].

2.3. Técnicas analíticas

Dietas, heces, eritrocitos, hígado, bazo y piel se incineraron en mufla a $450-500^\circ\text{C}$ hasta cenizas blancas que fueron disueltas con una solución de HCl/HNO₃/H₂O (1/1/2) (Suprapur, Merk) y enrasadas hasta el volumen adecuado con agua desionizada.

Las muestras por duplicado fueron analizadas para el cobre por espectrofotometría de absorción atómica con un Perkin-Elmer modelo 1100 B (Norwalk, CT, USA). Una solución estándar de cobre (1g l^{-1}) fue pre-

parada a partir de una solución Tritisol [Merk] (CuCl_2 en H_2O , $1000 \pm 0,002$). Las soluciones de calibración de $0,1-1 \mu\text{g ml}^{-1}$ de cobre fueron preparadas desde la solución estándar por una serie de diluciones con agua desionizada (Milli-Q plus, Millipore) y además un blanco.

Un pool de dietas, de heces y de hígados fueron usados como control interno para la precisión de las medidas. Los coeficientes de variación interensayo para el cobre fueron: dietas 8,1%; heces 3,8%; hígados 13,6%. Para controlar la exactitud en la determinación de cobre se empleó un hígado liofilizado (Community Bureau of Reference B.C.R., Reference Material n.º 185) cuyo valor certificado para el cobre era $189 \pm 4 \mu\text{g/g}$ y el valor obtenido fue $194 \pm 6 \mu\text{g/g}$.

2.4. Análisis estadístico

Para el tratamiento estadístico se realizó un análisis de varianza (Procedimiento ANOVA) que realizaba un análisis factorial 3x2 (aceite-cantidad) así como un análisis (Procedimiento ONEWAY) en función de la cantidad y/o tipo de aceite; posteriormente se analizaban las diferencias entre grupos aplicando el test de Duncan. Todos los resultados se expresaron como media \pm error estándar de la media. Se ha considerado en todos los casos diferencias estadísticamente significativas para valores de $p < 0,05$.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A lo largo del ensayo las ratas alimentadas con el 2% de grasa, sometidas a un régimen de alimentación pareada, no consumieron totalmente el alimento que se les ofrecía, y por ello globalmente la ingesta de estos grupos experimentó un descenso significativo respecto a los que tomaron el nivel lipídico adecuado. Sin que por el tipo de aceite se observara ninguna influencia sobre este parámetro.

Como consecuencia de su mayor consumo alimentario, a base de una dieta de riqueza calórica algo superior, los animales que tomaron las raciones del 8% de grasa mostraron evoluciones ponderales superiores y pesos finales mayores al final del ensayo (Fig. 1).

3.1. Utilización del cobre alimentario

De acuerdo con el menor consumo de alimento la ingesta de cobre también se deprimió ligeramente con las dietas hipograsas a lo largo de todo el período experimental y, en consecuencia, los animales disminuyeron su excreción fecal porque la digestibilidad del elemento no se modificó por el mayor o menor consumo graso (tabla I). A pesar de ello los valores de absorción de cobre en las ratas que ingirieron oliva y girasol al 2%, aún sin diferencias significativas, fueron

siempre más bajos que los de las que tomaron la ración con el contenido lipídico del 8%. Es decir, como habían comido menos, absorbieron menor cantidad y no pareció existir ningún efecto directo importante de la cantidad de grasa sobre la digestibilidad del elemento, salvo el consecuente a la depresión de la ingesta. En la misma línea y en otros ensayos se describió que el consumo de oliva o girasol, como fuente graso de dietas normales, tampoco alteraba la utilización del cobre (Pérez-Granados, 1996).

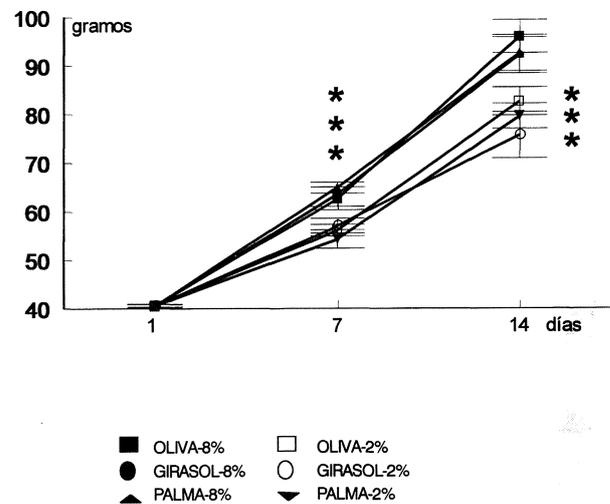


Figura 1

Evolución ponderal de las ratas alimentadas con dietas que contienen aceite de oliva, girasol o palma al 8% y 2%. Los * expresan diferencias significativas dentro de cada tipo de aceite en función de la cantidad. $p < 0,05$

Debe señalarse que en la excreción fecal se constató también un efecto del tipo de aceite, centrado en un incremento del cobre en las heces de los animales que tomaron la grasa más saturada, sobre todo al 8%, demostrando que en esta dieta el micronutriente se estaba utilizando con una eficacia algo inferior como se demuestra en el descenso significativo que experimentó su coeficiente de digestibilidad. Se carecen de datos para explicar la posible interferencia, ya que la absorción del cobre se relaciona en múltiples aspectos con las proteínas y productos derivados (Lönnerdal *et al.*, 1982) pero nada se dice de la influencia de la grasa. A la vista de los resultados descritos en el balance de zinc en un experimento paralelo realizado (Aguirre, 1995) podría incluso pensarse en un mecanismo de competencia entre ambos micronutrientes (Turnlund, 1994) que al actuar en favor de la utilización del zinc, deprimió la del cobre. Pero, dado que el efecto sobre el zinc a nivel digestivo no quedó claro, la

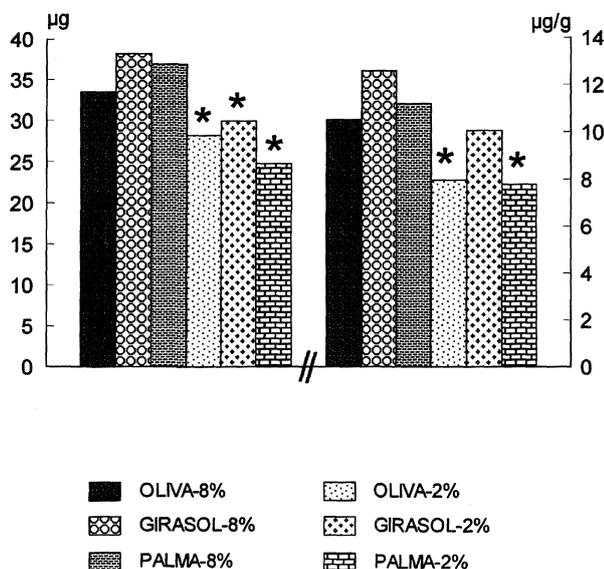


Figura 2

Contenido y concentración de cobre en el hígado de las ratas alimentadas con las dietas que contienen los aceites de oliva, girasol y palma. Los * expresan diferencias significativas dentro de cada tipo de aceite en función de la cantidad. $p < 0,05$

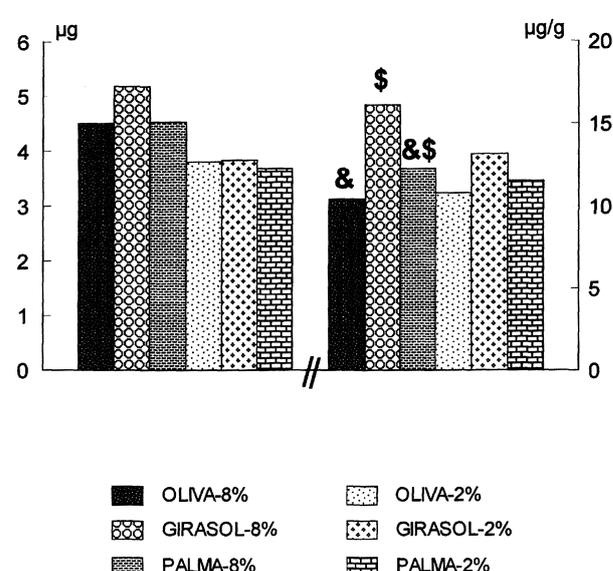


Figura 3

Contenido y concentración de cobre en el bazo de las ratas alimentadas con las dietas que contienen los aceites de oliva, girasol y palma. Los &, \$ expresan diferencias significativas entre los distintos tipos de aceite dentro de los grupos al 8%. $p < 0,05$

Las concentraciones séricas del elemento resultaron superiores en los grupos del 8% y, aunque no se conocen datos más específicos de la relación, parece que los niveles séricos de cobre se incrementan al aumentar las concentraciones de colesterol, y se correlacionan negativamente con las lipoproteínas de alta densidad (Thuiller-Juteau *et al.*, 1987). Por su parte el cobre en los hematíes no alcanzó influencias

definidas. Las concentraciones hepáticas se han usado como indicadores de la situación corporal del cobre en los animales. Esto parece concordar con el hecho de que los grupos que lo utilizaron peor, los de la grasa al 2%, tuvieron no sólo menores contenidos del elemento sino también más bajas concentraciones, especialmente las ratas alimentadas con aceite de oliva y oleína de palma (Fig. 2). En el bazo la

Tabla III

Concentración de *cobre* en distintos órganos

Grupos	Carcasa (mg/g)	Piel (µg/g)	Hematíes	Suero (µg/dl)
Oliva-8%	0,34±0,03	3,67±0,21	9,43±0,98	1,17±0,04
Oliva-2%	0,28±0,02	4,01±0,13	8,32±1,35	0,83±0,01*
Girasol-8%	0,36±0,04	3,56±0,13	9,51±1,95	1,10±0,06
Girasol-2%	0,28±0,03	4,58±0,36*	11,73±2,35	0,96±0,04
Palma-8%	0,32±0,03	3,68±0,23	7,89±0,82	1,06±0,13
Palma-2%	0,25±0,01*	3,89±0,17	12,77±1,92	0,99±0,13
ANOVA				
Aceite	NS	NS	NS	NS
Cantidad	p=0,007	p=0,005	NS	p=0,035
Aceite x Cant	NS	NS	NS	NS

Valores medios de 10 animales ± error estándar de la media.

Los * expresan diferencias significativas dentro de un mismo aceite en función de la cantidad.

influencia de la cantidad se manifestó a nivel de contenido, disminuyendo en los animales cuyas dietas tenían menos grasa (Fig. 3), pero en las concentraciones se observó una influencia del tipo de aceite, caracterizada por el siguiente orden creciente de las concentraciones: oliva la más baja, seguida de palma y girasol, sin diferencias entre las dos últimas. Por último cabe añadir que la cantidad de cobre por gramo de piel se incrementó justamente en los animales que tomaron menos grasa, que fueron los más pequeños, y los que lo utilizaron peor (tabla III).

De todo ello parece deducirse que el consumo de dietas hipograsas disminuye la utilización del cobre a través de la depresión de la ingesta, junto a una más ineficaz utilización. Por su parte la presencia de la oleína de palma, comparada con los aceites de oliva y girasol, se muestra más negativa en la digestibilidad del elemento.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo ha sido realizado dentro del proyecto ALI 92-0289-CO2-O2 financiado por la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre, M. (1995). —«Utilización de minerales en dietas hipograsas y en preparados dietéticos empleados en regímenes de adelgazamiento»—. Tesis Doctoral. F. Farmacia. Universidad Complutense. Madrid.
- Amine, E. K., Hegsted, D. M. (1975). —«Effect of dietary carbohydrates and fats on inorganic iron absorption»—. *J. Agr. Food Chem.* **23** (2) 204-208.
- Ammon, H. V., Thomas, P. J., Phillips, S. F. (1977). —«Effects of long chain fatty acids on solute absorption: Perfusion studies in the human jejunum»—. *Gut.* **18**, 805.
- Bowering, J., Masch, G. A., Lewis, A. R. (1977). —«Enhancement of iron absorption in iron depleted rats by increasing dietary fat»—. *J. Nutr.* **107**, 1687-1693.
- Friedman, H. I., Nylund, B. (1980). —«Intestinal fat digestion, absorption and transport»—. *Am. J. Clin. Nutr.* **33**, 1108.
- Kies, C. V. (1988). —«Mineral utilization of vegetarians: impact of variation in fat intake»—. *Am. J. Clin. Nutr.* **48**, 884-887.
- Lönnerdal, Bo., Hoffman, B., Hurley, L. S. (1982). —«Zinc and copper binding proteins in human milk»—. *Am. J. Clin. Nutr.* **36**, 1170.
- National Research Council (1978). —«Requirements of Laboratory Animals».— 3rd ed. National Academy of Sciences, Washington, D. C.
- Navarro, M. P., Vaquero, M. P., Castrillon, A. M., Varela, G. (1985). —«La utilización nutritiva de la proteína y de los minerales, modulada por el tipo de grasa dietética»—. *Grasas y Aceites* **36**, (1) 25-29.
- Pérez-Granados (1996). —«Consumo de grasas fritas y utilización de minerales»—. Tesis Doctoral F. Farmacia. Universidad Complutense. Madrid.
- Shiau, Y. F. (1981). —«Mechanisms of intestinal fat absorption»—. *Am. J. Physiol.* **240**, G1.
- Speckmann, E. W., Brink, M. F. (1967). —«Relationships between fat and mineral metabolism: A review»—. *J. Am. Diet. Assoc.* **51**, 517-521.
- Thomson, A. B. R., Keelan, M., Clandinin, M. T., Walker, K. (1986). —«Dietary fat selectively alters transport properties of rat jejunum»—. *J. Clin. Invest.* **77**, 279.
- Thuiller-Juteau, Y., Jandon, M. C., Clavel, J. P., Delattre, J., Galli, A. (1987). —«Zinc et cuivre sériques dans l'hypercholestérolémie»—. *Pathol. Biol.* **35**, 387.
- Turnlund, J. R. (1994). —«Cooper». En: «Modern Nutrition in Health and Disease»—. pp. 231-242. 8.ª ed. vol. 2. Ed. Shils, M., Olson, J. A., Shike, M. Lea & Febiger.
- Wapnir, R. A., Devas, G. (1995). —«Copper deficiency: interaction with high-fructose and high-fat diets in rats»—. *Am. J. Clin. Nutr.* **61**, 105-110.

Recibido: Febrero 1996
Aceptado: Noviembre 1996