

Capacidad de inducción metabólica de las verduras más consumidas habitualmente

N. Laso, S. Mas, M. J. Lafuente, J. M. Llobet*, R. Molina***, A. Ballesta***, T. W. Kensler**, A. Lafuente

DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA Y QUÍMICA TERAPÉUTICA. FACULTAD DE MEDICINA. *UNIDAD DE TOXICOLOGÍA. DEPARTAMENTO DE SALUD PÚBLICA. FACULTAD DE FARMACIA. UNIVERSIDAD DE BARCELONA. **ENVIRONMENTAL HEALTH SCIENCES. SCHOOL OF PUBLIC HEALTH. JOHNS HOPKINS UNIVERSITY. BALTIMORE (USA). ***SERVICIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA. HOSPITAL CLÍNICO Y PROVINCIAL. IDIBAPS. BARCELONA

RESUMEN

Antecedentes: Una de las estrategias en quimiopreención se basa en utilizar productos naturales para inducir el metabolismo y de esta manera inactivar sustancias tóxicas. Los inductores monofuncionales inducen los enzimas de Fase II, como las glutatión S-transferasas (GSTs) y la quinona óxido-reductasa (NQO1), sin modificar los sistemas oxidativos de Fase I. En la inducción de los enzimas de Fase II está involucrado el elemento regulador genético de respuesta a antioxidantes (ARE).

Objetivo: El objetivo de este trabajo ha sido realizar un estudio descriptivo *in vitro* de la capacidad de inducción metabólica de las verduras (15 verduras seleccionadas) que se consumen habitualmente.

Material y método: Los extractos de verduras se ensayan en dos líneas celulares: Hepa 1c1c7 y PE transflectada de manera estable con el plásmido ARE-luc+ (AREPE). Para las Hepa 1c1c7 se ha valorado la capacidad de estos productos de inducir la NQO1, GST y GSH. Para la línea celular AREPE se ha utilizado un ensayo luminométrico.

Resultados: Se considera extractos activos a aquellos que incrementan la actividad enzimática o la concentración de GSH más de 1,5 veces ($OR \geq 1,5$) a la dosis utilizada de 8 mg/ml. Para la actividad NQO1, las verduras más activas son el brócoli ($OR=5,5$), "calçot" (*Allium cepa L*) ($OR=4,76$), coliflor ($OR=2,88$), coles de bruselas ($OR=2,3$), acelgas ($OR=2,16$) y col ($OR=2$). También el calçot, induce significativamente la GST ($OR=2,1$) y la síntesis de GSH ($OR=2,4$). Los extractos con una OR más elevada ($OR > 2,5$) se ensayaron en la nueva línea celular AREPE, confirmándose como inductores: brócoli ($OR=3,5$), calçot ($OR=4,8$) y coliflor ($OR=1,8$). Estos resultados son muy similares a los descritos para las verduras consumidas en USA, añadiendo como novedad al calçot como producto autóctono de Cataluña. Ahora hay que confirmar estos resultados con líneas celulares modificadas para descartar la bifuncionalidad de los extractos activos.

Palabras clave: Quimiopreención. Glutatión S-transferasa (GST). Glutatión (GSH). Quinona óxido-reductasa (NQO1).

ABSTRACT

Introduction: One of the strategies in chemoprevention is based on the use of natural products to induce metabolism and to inactivate toxicants. Monofunctional inducers (MI) induce Phase II enzymes, as glutathione S-transferase (GSTs) and quinone reductase (NQO1), without modifying oxidating Phase I enzymes. The induction of Phase II enzymes seems to be mediated by a genetic regulating element in their promoter region that is termed the ARE (antioxidant response element).

Objective: The aim of this study is to identify, through a *in vitro* study, which of the vegetables consumed are inducers of the Phase II metabolism.

Materials and method: We assayed vegetable extracts (15 vegetables) in two cell lines: Hepa 1c1c7 and the stably transfected PE cell line with ARE-luc+ plasmid (AREPE). We measured the capacity of these vegetables to induce NQO1, GST enzymes and GSH. For the AREPE cell line, we have used a luminiscense assay to verify the induction of the ARE.

Results: We considered active extracts as those which induce NQO1, GST or GSH concentration more than 1.5 times ($OR \geq 1.5$) at 8 mg/ml dose. Broccoli ($OR=5.5$), Calçot (*Allium Cepa L*) ($OR=4.76$), cauliflower ($OR=2.88$), Brussels sprouts ($OR=2.3$), Swiss chard ($OR=2.16$) and green cabbage ($OR=2$) are active for NQO1 in Hepa 1c1c7 cell line. Also calçot significantly, induced GST ($OR=2.1$) and GSH ($OR=2.4$). Extracts with $OR \geq 2.5$ were tested by a luminiscense method in AREPE cell line; again broccoli ($OR=3.5$), calçot ($OR=4.8$) and cauliflower ($OR=1.8$) were confirmed as inducers. These results are very similar to those described for vegetables consumed in USA, adding calçot as a novel product grown in Catalonia. We now aim to confirm these results with modified cell lines to test the bifunctional activity of the active extracts.

Key words: Chemoprevention. Glutathione S-transferase (GST). Glutathione (GSH). Quinone reductase (NQO1).

INTRODUCCIÓN

La estrategia general en quimioprevención se basa en incrementar las vías y procesos de protección fisiológicos con los que cuenta nuestro organismo, a través de la dieta o mediante suplementos farmacológicos. Uno de los campos que se ha desarrollado más es la quimioprevención del cáncer. En este sentido, el consumo de inductores del metabolismo de compuestos cancerígenos, puede constituir una de estas estrategias protectoras.

Los inductores bifuncionales, que incluyen hidrocarburos aromáticos policíclicos, dioxinas y colorantes, inducen tanto los enzimas de Fase I (citocromos P-450) como los de Fase II (glutación S-transferasas). Los inductores monofuncionales (IM) sólo inducen los enzimas de Fase II, como las Glutación S-transferasas (GSTs) y la quinona-óxido reductasa (NQO1) lo que supone una gran ventaja ya que se evita la oxidación por parte de los citocromos y la subsecuente aparición de metabolitos oxidados que suelen ser muy tóxicos. Esta diferencia entre los inductores bifuncionales y monofuncionales se debe a su mecanismo de acción molecular. Los inductores bifuncionales se unen al receptor Ah y este complejo inductor-receptor se transloca al núcleo donde se une al elemento XRE (xenobiotic response element) presente tanto en el gen CYP que codifica para los citocromos, como en los genes que codifican para los enzimas de Fase II.

Favreau (1) y Jaiswal (2), además de identificar el XRE, describieron también el elemento de respuesta antioxidante (antioxidant response element, ARE) en la región contigua 5' del gen GST y NQO1 y que explica el mecanismo de acción de los IM (3). Efectivamente, los IM activan el ARE, lo que aumentará la transcripción de los enzimas de Fase II sin actuar sobre el XRE. En los últimos años se han podido aislar compuestos monofuncionales que son capaces de incrementar la actividad enzimática de los enzimas detoxificadores o inducen la síntesis de Glutación (GSH) e incluso inhiben el citocromo p-450 (4-7).

Entre los inductores monofuncionales se encuentran principalmente las ditioltionas y los isotiocianatos, presentes en las crucíferas y en el género *Allium* (Tabla I). Entre las ditioltionas, el oltipraz [5-(2-piranzil)-4-metil-1,2-ditiol-3-tiona] es el principio activo que más se ha estudiado y entre los isotiocianatos es el sulforafane (4-metilsulfonilbutil isotiocianato). En cuanto al oltipraz, desarrollado como antiesquistosómico en la década de los 80, se advirtió en los estudios de precomercialización, que la administración de este fármaco a los ratones resultaba en un incremento de la actividad de los enzimas de Fase II, tanto hepáticos como extrahepáticos. Estos hallazgos dieron pie a predecir que las ditioltionas podrían ser unos excelentes compuestos quimioprotectores frente al cáncer. Así, el oltipraz se muestra como un efectivo anticancerígeno frente al cáncer de mama, colon, páncreas, pulmón, esófago, piel, vejiga e hígado en modelos animales (9). En el modelo de exposición experimental a la aflatoxina, potente hepatocarcinógeno, se comprobó que el oltipraz confería una total protección frente a dicho carcinoma. Actualmente, el oltipraz se encuentra en Fase II del ensayo clínico en humanos, concretamente en Qidong (China), con una población endémica para el cáncer de hígado debido a la exposición a aflatoxina por contaminación de los cereales.

El objetivo de este trabajo que aquí se presenta, fue realizar un estudio descriptivo preliminar sobre la capacidad de quimioprevención de las verduras de consumo más frecuente en Cataluña. Adicionalmente, se ha puesto a punto una técnica de screening luminométrico con una línea celular transfectada.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron 15 productos (Tabla II) que se seleccionaron por criterios de elevado consumo por la población y por interés científico por los resultados previos en la literatura.

Los productos se liofilizaron y posteriormente, una porción de 400 mg de cada liofilizado se sometió a

TABLA I
PRINCIPALES INDUCTORES MONOFUNCIONALES Y LAS FUENTES EN LA DIETA

Principio activo	Fuentes dieta	Productos en fase de ensayo clínico
Ditioltionas	Crucíferas (coles, broccoli, coles Bruselas) y género <i>Allium</i>	Oltipraz (Fase II)
Isotiocianatos	Crucíferas, rábanos y género <i>Allium</i>	Sulforafane (Fase I)
Organosulfurados	Género <i>Allium</i> (cebollas, puerros, ajos)	
D-limoneno	Cítricos (naranja, limón, pomelo)	
Ácido elágico	Fresas, Uvas	

TABLA II

LISTADO DE VERDURAS SELECCIONADAS PARA EL ESTUDIO Y SUS VARIETADES

Nombre	Varietas
Tomate	Daniela
Lechuga	Hoja de roble
Judía verde	Perona
Cebolla*	Reca
Calçots	común
Acelgas	Verde
Coliflor*	Arizona
Pimiento rojo	Lamuyo
Col*	Milán
Coles Bruselas*	Común
Broccoli*	Moraten
Ajos*	Morado China
Espinacas	Viroflai
Berenjena	Negra larga
Habás	Común

*Seleccionadas por criterios de interés científico por los resultados previos en la literatura

una extracción con acetonitrilo y evaporación hasta sequedad. El extracto vegetal (reconstituido en 100 µL de acetonitrilo) se ensayó en las líneas celulares.

Para los ensayos con la línea celular Hepa 1c1c7 se estudiaron diferentes concentraciones (0-8 mg/ml) de cada extracto vegetal para conocer el intervalo de estudio compatible con una viabilidad celular óptima. En cada micropalca de cultivo se valoraron 3 concentraciones diferentes de cada producto, un control positivo (Beta-naftoflavona 2 µM) y un control del disolvente de los extractos (acetonitrilo) y por duplicado. Pasadas las 48 horas de la inducción se procedió a realizar las determinaciones enzimáticas. La concentración de proteínas se determinó por una modificación del método de Lowry (Bio-Rad DC[®] protein Assay). La actividad NQO1 se valoró por la aparición de tetrazolium reducido (MTT reducido) (10). La actividad GST se valoró por el método de Habig (11), utilizando el CDNB (Beta-naftoflavona 20 µM) y el GSH (20 mM) como sustrato. La concentración de GSH se evaluó colorimétricamente, por el método de Ellman (11).

Se consideraron los diferentes grados de potencia en la inducción, según la OR (relación de actividad en las células tratadas con el extracto vegetal/células no tratadas con el extracto), con la dosis máxima del extracto de 8 mg/ml:

OR ≥ 4: Inductor potente, OR ≥ 2: Inductor intermedio, OR ≥ 1,5 inductor débil, OR < 1,5 no hay inducción

Para los ensayos de inducción metabólica con la línea celular AREPE (cedidas por el Dr. Kensler, Johns Hopkins University) se utilizaron células de papiloma de ratón transfectadas de manera estable con el plásmido pTATA-ARE y que expresan la GST ARE-luciferasa de manera constitutiva. Se valoraron aquellos extractos ve-

getales más potentes en su capacidad inductora (OR ≥ 2,5) en la línea celular Hepa 1c1c7, a la concentración de extracto más alta (8 mg/ml). También se incluyó en este caso un control positivo (Hidroquinona 30 µM) y control de acetonitrilo y por duplicado. Pasadas las 12 horas de la inducción se determina la actividad luciferasa por luminometría (Lumat LB 9.507) utilizando el Luciferasa Assay System[®] de Promega.

RESULTADOS

Los valores basales de los parámetros estudiados en la línea celular Hepa 1c1c7 muestran un valor medio de actividad de la NQO1 de 155,7 nmoles/minuto/mg de proteína; de actividad de GST con una media de 408 nmoles /minuto/mg de proteína; niveles de GSH con una media de 352 nmoles /mg de proteína y niveles de proteínas con una media de 112,6 µg/ml de fracción soluble.

En esta línea celular, el marcador más sensible de la capacidad de quimiopreención fue la NQO1. De las 15 verduras seleccionadas para el estudio, 13 se mostraron activas para este enzima, destacando el brocoli (OR=5,5), "calçot" (*Allium cepa* L) (OR=4,76), coliflor (OR= 2,88), coles de Bruselas (OR=2,3), acelgas (OR=2,16) y col (OR=2) (Tabla III y Figura 1). La capacidad de inducción de la GST fue menos frecuente, ya que sólo el calçot, indujo significativamente la GST (OR=2,1), mientras que la lechuga, acelgas y pimiento rojo rozaron el umbral de inducción (Figura 2). Lo mismo ocurrió con la inducción de la síntesis de GSH por el calçot (OR=2,4) que se demostró nuevamente como el agente más efectivo; la judía verde y el pimiento rojo se mostraron ligeramente por debajo del umbral de actividad (Figura 3).

Respecto a los resultados preliminares obtenidos en la línea celular AREPE, en general fueron muy similares a los obtenidos con el estándar hidroquinona y muy superiores a las obtenidas con los 2 controles (en ausencia de tratamiento y con presencia de acetonitrilo). El valor basal de la actividad luciferasa fue de 3.675 UL (unidades de luz).

Se confirmaron como inductores de la actividad luciferasa: el brocoli (OR= 3,5), calçot (OR=4,8) y coliflor (OR=1,8) (Tabla IV).

DISCUSIÓN

Numerosos estudios epidemiológicos sugieren la idea que la dieta rica en fruta y verdura protege frente la mayoría de cánceres en humanos (12-14). Uno de los grupos de componentes que podrían ser responsables de estos efectos beneficiosos para la salud, son los inductores monofuncionales. De todos los productos naturales estudiados, es el brocoli el que ha manifestado una mayor actividad IM. Estos resultados han lle-

TABLA III

INDUCCIÓN DE LA NQO1 PARA TODOS LOS VEGETALES, EXPRESADOS EN LAS DIFERENTES UNIDADES DEFINIDAS EN EL APARTADO DE MATERIALES Y MÉTODOS

Extracto	Dosis mg ¹	OR ² 8mg/ml	Unidad/g	% Peso seco ⁴	Unidad/g
			Peso seco ³	seco	Peso fresco ⁵
Broccoli	4,02	5,5	248,75	10,2	24,87
Calçot	6,18	4,76	161,81	9	14,56
Cebolla	29,4	1,83	34,01	8,5	2,9
Ajos	34,65	1,72	28,86	32,46	9,37
Col	24	2	41,66	7,3	3,04
Coliflor	15,51	2,88	64,47	6,4	4,12
Espinacas	28,8	1,84	34,72	5,53	1,92
Tomate	43,59	1,53	22,94	6,6	1,51
Lechuga	55,65	1,40	17,97	3	0,54
Judía verde	44,64	1,52	22,4	7,9	1,77
Pimiento rojo	24	2	41,66	7,76	3,23
Acelgas	18,39	2,16	54,37	4,7	2,55
Habas	51,42	1,46	19,44	14	2,72
Berenjenas	28,5	1,91	35,08	5,9	2,1
Coles Bruselas	18,66	2,3	53,6	13,4	7,18

*Una unidad se define como la cantidad de inductor necesaria para duplicar la actividad específica de NQO1 en células Hepa1c1c7 cultivadas en placa con 3 ml de medio de cultivo: 1. dosis: dosis de extracto necesaria para duplicar la actividad de la NQO1 respecto al control con acetonitrilo en 3 ml de medio. Esta dosis se corresponderá con una unidad de inducción: 2. OR: relación entre la actividad en las células que han sido sometidas a tratamiento con extractos vegetales a la dosis alta (8 mg/ml) versus las células que sólo han sido expuestas al acetonitrilo (control): 3. Unidad/g peso seco: dosis necesaria para duplicar la actividad específica de la NQO1 en 3 ml de medio referido a gramos de peso del producto estudiado (lío-filizado): 5. Unidad/g peso fresco: se define igual que la unidad/g peso seco, pero referido a gramos de peso fresco del vegetal y se calcula a partir del % del peso seco (4) del producto original.

vado a los expertos a pronunciarse a favor de su consumo. Actualmente, el broccoli se oferta en el mercado de Estados Unidos bajo diferentes formas, como brotes jóvenes, congelado, etc. En nuestro entorno, es difícil introducir el consumo de broccoli y en general de las crucíferas ya que no constituyen un alimento de primera línea para la población.

Respecto a nuestros resultados, en general, son muy similares a los presentados por Prochaska (6) para las especies de broccoli consumidas en USA, donde se observó una inducción en el enzima NQO1 de 5 veces respecto a un control, a la misma dosis de extracto

que la que nosotros ensayamos. Cabe destacar principalmente que en la línea celular Hepa 1c1c7, el marcador más eficaz ha sido la NQO1, que ha sido capaz de detectar actividad inductora en más del 80% de los productos estudiados. Hay que remarcar los interesantes resultados obtenidos con el calçot, un producto autóctono de Cataluña, que se ha demostrado como un inductor de amplio espectro siendo el único producto capaz de inducir la NQO1, GST y GSH a la vez. De hecho ya sabíamos por los estudios realizados en USA (6) que las cebollas verdes inducían la NQO1 pero no existían datos en cuanto a su capacidad de inducción

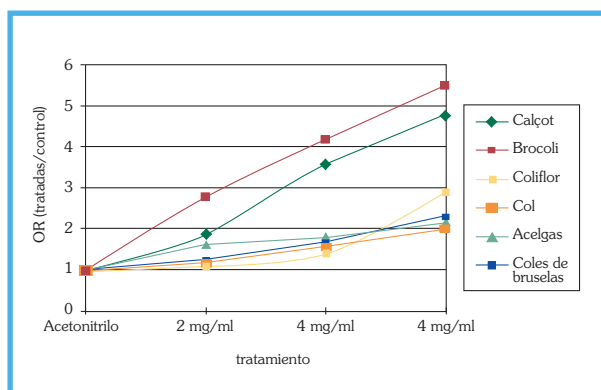


Fig. 1. Inducción de la NQO1, expresado en OR (tratadas/control) de las verduras más activas.

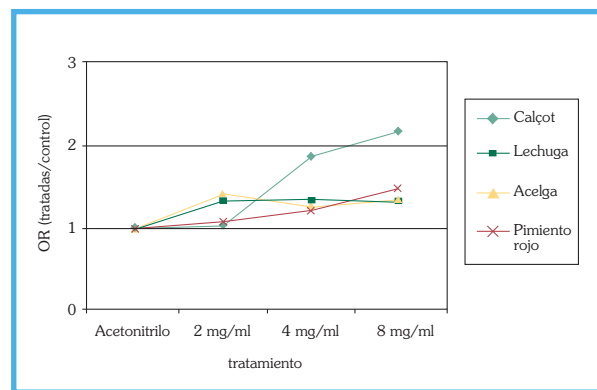


Fig. 2. Inducción de la GST, expresado en OR (tratadas/control) de las verduras más activas.

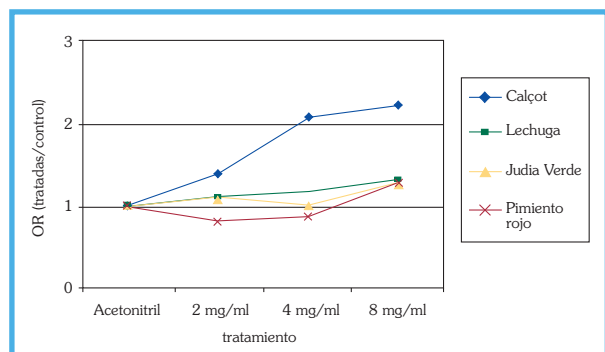


Fig. 3. Inducción de la GSH, expresado en OR (tratadas/control) de las verduras más activas.

de la GST y la GSH. Ahora debemos estudiar el comportamiento de otras cebollas verdes para observar si son tan efectivas como el calçot. También cabe destacar la introducción de la línea celular transflectada AREPE, como sistema rápido de screening, que facilita mucho el trabajo experimental al evitar la analítica enzimática. Estos resultados reproducen bastante bien los obtenidos en la línea celular Hepa 1c1c7 para el calçot, aunque en el broccoli y sobre todo la coliflor, los resultados son ligeramente inferiores.

Finalmente hay que recordar que estos ensayos de inducción *in vitro* han de completarse siempre con ensayos realizados con líneas celulares modificadas que permitan diferenciar si el inductor es monofuncional o bifuncional. En nuestro modelo, se habrá de utilizar una línea celular Hepa 1c1c7 defectiva para el receptor aril hidroxilasa (Ah) o defectiva en la funcionalidad del enzima citocromo p-450. Esta información es crucial para la identificación de inductores monofuncionales con un uso potencial quimioprotector en humanos.

TABLA IV

RESULTADOS OBTENIDOS DE LA INDUCCIÓN EN LA LÍNEA CELULAR AREPE EXPRESADOS EN OR (relación de la actividad de luciferasa en las células tratadas/control)

Tratamiento	OR (tratadas/control) línea celular AREPE	OR (tratadas/control) línea celular Hepa1c1c7
Control Acetonitrilo	1	1
Broccoli 8 mg/ml	3,48	5,4
Calçot 8 mg/ml	4,77	4,74
Coliflor 8 mg/ml	1,76	3,1

AGRADECIMIENTO

Queremos agradecer el asesoramiento de la Dra. Josefa Ros del Servicio de Cultivos Celulares, CDB/IDIBAPS del Hospital Clínico de Barcelona, Sr. Josep Faura, Jefe del Mercado de Frutas y Hortalizas de Mercabarna y al Sr. Lluís Macià del Mercat del Ninot (Barcelona) por su asesoramiento en la obtención de diferentes variedades de verduras.

Este estudio ha sido financiado por el Instituto Danone y por una beca del Colegio Oficial de Farmacéuticos de Barcelona (Nuria Laso Moreno) ¹

BIBLIOGRAFÍA

- Favreau LV, Pickett CB. Transcriptional regulation of the rat NAD(P): quinone oxidoreductase gene. Identification of regulatory elements controlling basal level expression and inducible expression by planar aromatic compounds and phenolic antioxidants. *J Biol Chem* 1991; 266: 4556-61.
- Jaiswal AK. Human NAD(P)H: quinone oxidoreductase (NQO-1) gene structure and induction by dioxin. *Biochemistry* 1991; 30: 10647-53.
- Begleiter A, Leith MK, Curphey TJ, et al. Induction of DT-diaphorase in cancer chemoprevention and chemotherapy. *Oncol Res* 1997; 4: 371-82.
- Yannai S, Day AJ, Williamson G, Rhodes MJC. Characterization of flavonoids as monofunctional or bifunctional inducers of quinone reductase in murine hepatoma cell lines. *Food Chem Toxicol* 1998; 36 (8): 623-30.
- Miranda CL, Aponso GL, Stevens JF, Deinzer ML. Prenylated chalcones and flavanones as inducers of quinone reductase in mouse Hepa 1c1c7. *Cancer letters* 2000; 149: 21-9.
- Prochaska J, Santamaria AB, Talalay P. Rapid detection of inducers of enzymes that protect against carcinogens. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 2394-8.
- Fahey J, Zhang Y, Talalay P. Broccoli sprouts: an exceptionally rich source of inducers of enzymes that protect against chemical carcinogens. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 10367-72.
- Bueding E, Dolan P, Leroy JP. The antischistosomal activity of oltipraz. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1982; 37: 293-303.
- Kensler TW, Helzlsouer KJ. Oltipraz: clinical opportunities for cancer chemoprevention. *J Cell Biochem* 1995; 228: 101-7.
- Prochaska J, Talalay P. Regulatory mechanisms of monofunctional and bifunctional anticarcinogenic enzyme inducers in murine liver. *Cancer Res* 1988; 48: 4776-82.
- Li Y, Lafuente A, Trush MA. Characterization of quinone oxidoreductase, glutathione and glutathione S-transferase in human myeloid cell lines: induction by 1,2-dithiole-3-thione and effects on hydroquinone-induced cytotoxicity. *Life Sci* 1994; 54: 901-16.
- Ames BN, Magaw R. Ranking possible carcinogenic hazards. *Science* 1990; 236: 271-80.
- Block G, Patterson B, Subar A. Fruit, vegetables and cancer prevention: a review of the epidemiological evidence. *Nutr Cancer* 1992; 18: 1-29.
- Morse MA, Stoner GD. Cancer chemoprevention: principles and prospects. *Carcinogenesis* 1993; 14: 1737-46.

Actualización en alergia alimentaria

M. Martín Esteban*, I. Polanco**

SERVICIOS DE *ALERGIA Y **GASTROENTEROLOGÍA Y NUTRICIÓN.
HOSPITAL INFANTIL UNIVERSITARIO LA PAZ. MADRID. ESPAÑA

RESUMEN

La alergia alimentaria tiene una importancia creciente dentro de las enfermedades alérgicas. Sólo unos pocos alimentos son responsables de la mayor parte de las reacciones alérgicas: huevo, leche, pescado y frutos secos en el niño; frutos secos, frutas frescas, pescado y mariscos en el adulto. Los síntomas de las reacciones alérgicas a alimentos afectan fundamentalmente a la piel, tracto digestivo y, en menor grado al aparato respiratorio y pueden producirse por alergia inmediata, mediada por IgE, o por mecanismos no IgE. La piel es el órgano que más se afecta en las reacciones mediadas por IgE, mientras que la afectación aislada del tracto gastrointestinal es característica de las reacciones no mediadas por IgE. En el diagnóstico de la alergia alimentaria es útil su clasificación en síndromes mediados o no mediados por IgE, ya que aunque la evaluación clínica inicial es similar, la valoración definitiva varía considerablemente. Una vez diagnosticada adecuadamente, el único tratamiento eficaz actualmente disponible es la dieta de eliminación rigurosa del o de los alimentos implicados.

Palabras clave: Dieta de eliminación. Alergia alimentaria. Hipersensibilidad. Intolerancia alimentaria. Provocación.

INTRODUCCIÓN

Se conoce como *alergia alimentaria* o *hipersensibilidad a alimentos* al conjunto de reacciones adversas a alimentos, debidas a su ingesta, contacto o inhalación, de patogenia inmunológica comprobada. Sólo se produce en algunos individuos, puede ocurrir después de la toma de muy pequeñas cantidades del alimento y no se relaciona con ningún efecto fisiológico o fisiopatológico propios del mismo. El término "alergia" o "hipersensibilidad alimentaria" se ha utilizado abusivamente, aplicándola de forma incorrecta a cualquier reacción adversa a un alimento o aditivo alimentario.

Las reacciones alérgicas a alimentos deben distinguirse de las reacciones de intolerancia alimentaria y de las reacciones tóxicas por alimentos. Estos dos últimos tipos se caracterizan por ser dosis-dependientes, es decir, las manifestaciones clínicas que producen son

ABSTRACT

Food allergic disorders have a increasing importance among allergic diseases. A limited number of foods are responsible for the vast majority of food-induced allergic reactions, egg, milk, fish, and nuts in children and nuts, fresh fruits, fish, and shellfish in adults. Food-induced allergic reactions are responsible for a variety of symptoms involving the skin, gastrointestinal tract, and respiratory tract and may be caused by IgE-mediated and non-IgE-mediated mechanisms. The skin is most often affected by IgE-mediated allergic reactions, whereas isolated gastrointestinal disorders are most often caused by non-IgE-mediated reactions. When evaluating possible food-induced allergic disorders, it is useful to categorize disorders into IgE and non-IgE-mediated syndromes. The initial history and physical examination are essentially identical for IgE- and non-IgE-mediated disorders, but the subsequent evaluation differs substantially. Once properly diagnosed, strict avoidance of the implicated food or foods is the only proven form of treatment.

Key words: Avoidance diet. Food allergy. Food challenge. Food intolerance. Hypersensitivity.

tanto más intensas cuanto mayor sea la cantidad de alimento o aditivo alimentario ingerido. Esta relación dosis-respuesta puede no existir en las reacciones alérgicas, de tal forma que, en algunas de estas situaciones, dosis muy pequeñas pueden dar lugar a una respuesta clínica exagerada. Otra característica peculiar de las reacciones tóxicas es que pueden ocurrir en cualquier individuo, siempre que ingiera el alimento en cantidad suficiente. En cambio, tanto en las reacciones alérgicas como en las de intolerancia, la aparición de manifestaciones clínicas ante la ingestión de un producto determinado, a una dosis determinada, está únicamente en relación con las características del individuo, de tal forma que esa misma dosis es perfectamente tolerada por cualquier otro individuo, por lo demás sano (Tabla I).

A pesar de estas diferencias, a veces las reacciones tóxicas, las de intolerancia o las alérgicas pueden dar lugar a cuadros clínicos muy parecidos. Esta situación puede ocurrir cuando el agente responsable,

TABLA I

DIFERENCIAS Y SIMILITUDES ENTRE REACCIONES ALÉRGICAS, REACCIONES DE INTOLERANCIA Y REACCIONES TÓXICAS A ALIMENTOS

	<i>Reacción alérgica</i>	<i>Reacción de intolerancia</i>	<i>Reacción tóxica</i>
Dependencia de factores del individuo	(+)	(+)	(-)
Dependencia de factores del alimento	(-)	(-)	(+)
Patogenia	Inmunológica	Diversa, no inmunológica	

además de tener una acción farmacológica general, actúa sobre un individuo que, por unas características determinadas, tiene un umbral de respuesta disminuido. También es posible que el agente responsable, p.e., histamina, sea, así mismo, un mediador de las reacciones anafilácticas, lo que puede dar lugar a cuadros clínicos superponibles a éstas (reacciones anafilactoides, pseudoalergia alimentaria).

Dentro de la alergia alimentaria se incluyen tanto las reacciones de patogenia inmunológica mediadas por IgE (hipersensibilidad o alergia de tipo inmediato), como las producidas por cualquier otro mecanismo inmunológico conocido (*reacciones no mediadas por IgE*). Es característico de las primeras la presencia de títulos altos de anticuerpos de la clase IgE frente al alimento. En las segundas puede encontrarse aumento de anticuerpos específicos pertenecientes a otras clases de inmunoglobulinas, complejos inmunes o, más probablemente, respuestas de inmunidad mediada por células. También es posible la existencia de una participación mixta, es decir, parcialmente mediadas por IgE y por células, en grado variable. En cualquier caso, además de la evidencia de relación de dependencia entre la ingestión de un alimento y la aparición de síntomas, es necesario que estos parámetros inmunológicos alterados estén directamente involucrados en la fisiopatología responsable de los síntomas. Algunas enteropatías, como la enfermedad celíaca y otras por proteínas (leche de vaca, arroz, pollo, soja, etc), podrían estar incluidas dentro del concepto de alergia alimentaria ya que en ellas parece muy probable la existencia de un mecanismo inmunológico subyacente, si bien no hay datos suficientes para precisar su naturaleza exacta.

ALERGI A ALIMENTARIA DE TIPO INMEDIATO (MEDIADA POR IgE)

En contraste con la idea arraigada entre los profanos e incluso, entre algunos médicos, es probable que la alergia alimentaria constituya sólo una parte cuantitativamente muy pequeña del conjunto de las reacciones adversas a alimentos. Los datos de prevalencia de alergia alimentaria en la población son muy limitados, tanto en niños como en adultos, debido a la disparidad conceptual y a los diferentes criterios diagnósticos utilizados. Cuando se utiliza un método de provocación controlada para valorar una posible reacción adversa a un alimento, no más de un tercio de los niños supuestamente alérgicos responden positivamente y muchos menos en la población adulta (Tabla II). También, dentro de la población infantil, parece que su incidencia es mayor en el niño pequeño (Figura 1).

Todos los alimentos pueden ser potencialmente sensibilizantes. Su prevalencia está en relación, entre otros factores, con los hábitos de alimentación de la población estudiada. Aunque cualquier alimento es capaz de producir una respuesta de hipersensibilidad inmediata, la mayor parte de los pacientes reacciona sólo a unos pocos alimentos. En nuestro medio, en el niño pequeño, el huevo (proteínas de la clara) es el alérgeno alimentario más frecuente, seguido de la leche de vaca y de los pescado (Tabla III). Después de esa edad predominan las sensibilizaciones a vegetales, como frutos secos, frutas frescas y leguminosas; en estos casos es frecuente encontrar una sensibilización concomitante a pólenes.

TABLA II

REACCIONES ADVERSAS A ALIMENTOS: PREVALENCIA

	<i>Poblacion general</i>	<i>Adultos</i>	<i>Niños (<3a)</i>
Referencia	[1]	[2]	[3]
N 1 casos	20000	1483	480
Sospecha de RA (%)	20,4	12,4	28
RA confirmada (%)	1,4 - 1,8	0,8	8

[1] Young E, Stoneham MD. A population study of food intolerance. *Lancet* 1994; 343: 1127-1130.

[2] Jansen JJN, Kardinaal AFM, Huijbers G, Viieg-Boerstra BJ, Martens BPM, Ockhuizen T. Prevalence of food allergy and intolerance in the adult Dutch population. *J Allergy Clin Immunol* 1994; 93: 446-456.

[3] Bock SA. Prospective appraisal of complaints of adverse reactions to foods in children during the first 3 years of life. *Pediatrics* 1987; 79: 683-688.

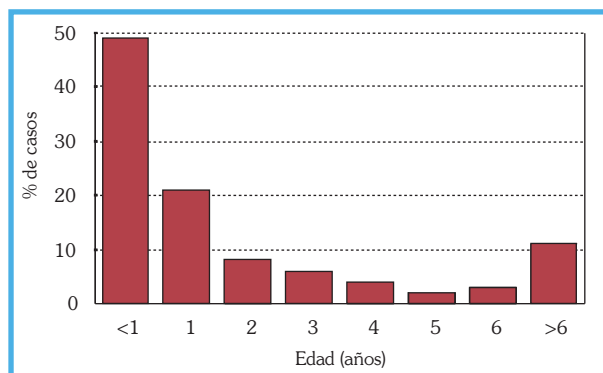


Fig. 1. Edad de comienzo de los síntomas en 383 casos de hipersensibilidad inmediata a alimentos en el niño. Datos de: Crespo JF, Pascual C, Burks AW, Helm RM, Martín Esteban M. Frequency of food allergy in a pediatric population from Spain. *Pediatr Allergy Immunol* 1995; 6: 39-43.

Diversos factores pueden actuar, conjunta o separadamente, en la aparición de respuesta IgE ante un alimento determinado.

1.1. *Capacidad alergénica propia de cada alimento.* No bien definida, en probable relación con su contenido proteico, proteínas con peso molecular entre 10 y 100 kD, presencia de epitopos secuenciales termoestables, presencia de inhibidores de proteasas (p.e., ovomucoide en la clara de huevo), etc.

2.1. *Frecuencia de su consumo.* Depende, en gran parte, de los hábitos alimenticios de la población, en relación, a su vez, con la edad del individuo y el área geográfica donde habita. Así, la leche de vaca suele ser el alérgeno alimentario más frecuente en los lactantes, debido a que es el alimento de mayor consumo en este grupo de edad. La mayor frecuencia de alergia a cacahuete en Estados Unidos puede estar en relación con la importancia de su consumo en ese país. La alergia a pescados predo-

minante en los países escandinavos puede obedecer a las mismas razones.

3.1. *Edad de introducción de los alimentos en la dieta del niño.* Para algunos alimentos, como huevo, leche de vaca y pescados, la mayor parte de los casos comienzan muy tempranamente, en el lactante. En estas sensibilizaciones, el comienzo de los síntomas parece relacionarse estrechamente con el calendario de alimentación, de tal manera que la edad de su incidencia máxima coincide con la edad en que es habitual la introducción del alimento en la dieta. Todo ello parece indicar que los primeros contactos con un alimento son muy importantes en el condicionamiento de una hipersensibilidad alimentaria.

4.1. *Presentación del alérgeno.* En el lactante es frecuente la aparición de síntomas en relación con la aparente primera ingesta del alimento sensibilizante. Su ejemplo más característico es la alergia inmediata a PLV, pero también puede observarse en pacientes con hipersensibilidad a huevo o a pescado. Este hecho implica la existencia de contactos previos, inaparentes o no constatados, con el alérgeno, lo que puede explicarse por la existencia de contactos con dosis mínimas del alérgeno, probablemente de forma continuada, por su paso por vía placentaria o, más probablemente, a través de la leche materna. Ello puede indicar que la administración de muy pequeñas cantidades de antígeno pueden favorecer la sensibilización, tal como se ha demostrado a nivel experimental.

5.1. *Otras sensibilizaciones no alimentarias asociadas.* Es frecuente la asociación de sensibilización a alimentos vegetales (frutas y hortalizas, principalmente) con sensibilizaciones a pólenes, pero no a otros neuroalérgenos, como los dermatofagoides. En estos casos se observa cómo, en general, la edad de comienzo de la sensibilización está más en relación con la edad de mayor frecuencia de aparición de polinosis que con la introducción de estos alimentos en la dieta. Estos hechos indican que la alergenicidad cruzada, demostrada entre varias especies de vegetales y pólenes puede ser un factor favorecedor de sensibilización a alimentos cuando un individuo está sensibilizado a pólenes, o viceversa.

6.1. *Alta capacidad de respuesta IgE.* Es un factor fundamental, muy frecuente en estos pacientes, conocidos como "de riesgo atópico", como lo muestra el hallazgo de los indicadores clásicos de atopia: alta incidencia de antecedentes familiares, valores elevados de IgE, sérica y polisensibilizaciones a los más variados alérgenos.

Manifestaciones clínicas de la alergia inmediata a alimentos

Los síntomas pueden limitarse al sitio de contacto con el alimento, por ejemplo, la orofaringe (síndrome de alergia oral), el tracto gastrointestinal (alergopatía gastrointestinal), la piel (urticaria y dermatitis de contacto por proteínas) o el tracto respiratorio a continuación de una exposición a productos volátiles de determinados alimentos (rinoconjuntivitis, asma).

TABLA III

INCIDENCIA DE SENSIBILIZACIÓN A ALIMENTOS EN CONSULTA EXTERNA DE ALERGOLOGÍA EN HOSPITAL PEDIÁTRICO

Alimento	Nº de casos	(%)
Huevo	213	51,1
Leche de vaca	139	33,3
Pescado	75	18,0
Frutos secos	68	16,3
Frutas frescas	63	15,1
Leguminosas	50	12,0
Hortalizas	23	5,5
Crustáceos	17	4,1
Carnes	12	2,9
Moluscos	11	2,6
Otros	8	1,9

Datos de 417 pacientes menores de 15 años (1994-96). Servicio de Alergia, HUI La Paz. Madrid.

Sin embargo, es más frecuente la aparición de reacciones generales, de intensidad variable, en las que los órganos principalmente involucrados son la piel y el tracto gastrointestinal. Menos frecuente es la afectación respiratoria o de otros aparatos y sistemas. Ocasionalmente pueden aparecer reacciones graves, como edema de glotis o con compromiso cardiovascular, hipotensión y pérdida de conciencia (choque anafiláctico) (Tabla IV).

En cualquier caso, suelen ser síntomas de aparición inmediata, muchas veces instantánea, casi siempre antes de transcurrida una hora de la ingesta del o de los alimentos responsables y en clara relación con ella, con evidencia de anticuerpos específicos de la clase IgE, demostrables por pruebas cutáneas y métodos *in vitro*.

Habitualmente, las reacciones adversas a alimentos de comienzo tardío en relación con el momento de la ingesta, no son expresión de una patogenia mediada por IgE y suelen manifestarse por síntomas preferente o exclusivamente digestivos, como las enteropatías por proteínas de leche de vaca.

Urticaria y/o angioedema. Constituyen los signos más frecuentes. Pueden aparecer aislados, asociados con síntomas y signos en otros órganos de choque o en el contexto de una reacción anafiláctica grave. Las lesiones urticariales suelen aparecer súbitamente, acompañadas de intenso prurito, con localización, tamaño e intensidad muy variables. Un síntoma muy grave es la posible aparición de edema de glotis. A veces los habones urticariales no son evidentes y sólo se observa prurito intenso y sensación de calor con eritema localizado o generalizado. Rara vez la urticaria crónica es producida por alergia alimentaria.

También los alimentos pueden producir urticaria al contacto directo con la piel de algunos pacientes, en general en aquellos sensibilizados muy intensamente.

Signos gastrointestinales agudos. Suelen acompañar a las manifestaciones cutáneas. También pueden aparecer en el curso de una anafilaxia generalizada. Consisten fundamentalmente en náuseas, vómitos, abdominalgias o diarrea, aislados o en com-

binación, de presentación brusca. En el niño mayorcito o en el adulto son raros los cuadros exclusivamente digestivos. En cambio, en lactantes pequeños, es más frecuente observar síntomas limitados al tubo digestivo, sin anticuerpos IgE demostrables, que, a veces, pueden preceder en el tiempo a las manifestaciones clínicas extradigestivas. Es más dudoso que cuadros clínicos gastrointestinales aislados de aparición más retardada, sin clara relación con la ingesta alimentaria, o de carácter subagudo o crónico sean mediados por IgE. Lo mismo puede decirse de los cólicos del lactante pequeño alimentado al pecho.

Síndrome de alergia oral. Se caracteriza por la presentación de prurito oral u orofaríngeo con la ingesta de determinados alimentos, especialmente frutas frescas u otros vegetales crudos. Puede considerarse como una urticaria de contacto limitada casi exclusivamente a la orofaringe, aunque, en ocasiones, puede haber también disfonía o angioedema de labios, lengua, úvula y laringe. A veces es la única manifestación de alergia a un alimento o grupo de alimentos, pero también puede ser el primer síntoma de una anafilaxia generalizada. Este síndrome suele aparecer en algunos pacientes polínicos (sensibilizados, principalmente, a gramíneas y/o compuestas) con la ingesta de determinados vegetales crudos: melón, plátano, rosáceas (melocotón, manzana, cereza, etc.), apio, zanahoria, tomate, etc.; en general, ese mismo alimento no produce síntomas cuando se ingiere cocinado. Otros alimentos que pueden ocasionar este cuadro son las leguminosas (lenteja, cacahuete), huevo y pescados.

Dermatitis atópica. En esta entidad es frecuente encontrar hipersensibilidad mediada por IgE a diversos alimentos e inhalantes. Las características patogénicas y clínicas de la dermatitis atópica parecen indicar que este proceso es resultado de una hipersensibilidad no clásica, compatible con el estadio final de una reacción cutánea tardía, con activación preferente de linfocitos Th2 por las células de Langerhans portadoras de IgE. Por ello, es necesario establecer el verdadero significado clínico de estas sensibilizaciones mediante una valoración anamnésica cuidadosa, dieta de eliminación y prueba de provocación controlada. Bajo estas condiciones, sólo en la tercera parte de los casos, aproxima-

TABLA IV
CUADROS CLÍNICOS EN RELACIÓN CON HIPERSENSIBILIDAD A ALIMENTOS MEDIADA POR IgE
(565 sensibilizaciones alimentarias en 355 pacientes)

Cuadro clínico	Nº de casos	(% s/565)
Cutáneo agudo (urticaria, angioedema, eritema, etc.)	505	89,4
Dermatitis atópica	20	3,5
Digestivo agudo (vómitos, diarrea)	117	20,7
Asma bronquial (rinoconjuntivitis)	76	13,5
Anafilaxia generalizada (*)	6	1,1

(*) Los seis episodios de anafilaxia fueron debidos a huevo (3 casos), pescado (2 casos) y leche de vaca (1 caso).

Datos de: Crespo JF, Pascual Marcos C, García Ara MC, Romualdo L, Martín Esteban M. Espectro clínico de las reacciones alérgicas a alimentos en la infancia. *An Esp Pediatr* 1995; 42: 328-32.

damente, de dermatitis atópica puede demostrarse una influencia de estas sensibilizaciones en el desencadenamiento y evolución de la dermatitis. Sin embargo, la mayoría de estos niños reaccionan en provocación con síntomas agudos propios de la hipersensibilidad inmediata a alimentos y en pocas ocasiones con eccema. Por otra parte, la retirada del alimento de la dieta parece producir mejoría en algunos de estos pacientes, pero la resolución completa del eccema no suele conseguirse. En estos pacientes la exposición al alérgeno suele producir prurito y eritema que, a consecuencia del rascado, exacerban las lesiones cutáneas de una dermatitis atópica previa (reacción dual); otras veces la respuesta es más intensa, con urticaria/angioedema o, incluso choque anafiláctico. Más raro es el empeoramiento del eccema varias horas o días después de la provocación, sin reacción inmediata (reacción tardía), cuya patogenia no está clara.

Asma bronquial. El asma por ingestión de alimentos es rara, salvo si va acompañada de síntomas generalizados. Probablemente, su incidencia está exagerada, lo mismo que la rinitis, sinusitis y otitis serosa en relación con alimentos, como puede comprobarse cuando se efectúan pruebas de provocación debidamente controladas.

En sujetos muy sensibilizados a determinados alimentos (p.e., pescados, crustáceos, leguminosas, etc.) es frecuente el asma, rinitis o rinoconjuntivitis por inhalación de productos volátiles de los mismos, que se desprenden con mayor intensidad durante su manipulación culinaria o en los puntos de venta (pescaderías). A veces se asocia a manifestaciones cutáneas, como urticaria.

En otras ocasiones, la sensibilización a determinados alimentos, como el huevo, puede facilitar la aparición de asma por sensibilización a plumas o deyecciones de aves ("síndrome huevo-aves").

Anafilaxia generalizada. Puede ocurrir en pacientes con intensa sensibilización a alimentos. Se estima su aparición en el 1-2% de los casos de hipersensibilidad inmediata a alimentos. Afecta a múltiples órganos y sistemas, manifestándose con dolor abdominal, náuseas, vómitos, diarrea, disnea, cianosis, dolor torácico, urticaria, angioedema, arritmia, hipotensión y shock. Suele aparecer dentro de los primeros 30 minutos tras la ingesta del alimento, aunque se han comunicado casos raros de anafilaxia sistémica horas después de la ingesta del alimento sensibilizante. Es posible que la primera manifestación de alergia alimentaria sea un episodio de choque anafiláctico, pero, más a menudo, está precedido de síntomas menores, como molestias abdominales o urticaria, en relación con exposiciones previas al alimento sensibilizante. Los alimentos que con más frecuencia causan choque anafiláctico en el niño son leche de vaca, pescado y cacahuete, pero puede producirse en relación con cualquier otro alimento.

Una variante es la *anafilaxia alimentaria inducida por el ejercicio*, en la que la ingesta de uno o varios tipos de alimentos desencadena cuadros anafilácticos graves, si se sigue de ejercicio violento. En cambio, la ingesta del o de los mismos alimentos o

el ejercicio, por separado, no producen síntomas. Excepcionalmente puede demostrarse la implicación de un alimento determinado por provocación controlada, debido a las dificultades técnicas que entraña. Se ignora la patogenia de esta situación.

Hipersensibilidad inmediata a alimentos con evidencia de anticuerpos específicos IgE, pero sin síntomas relacionados (prueba de provocación negativa). Es una situación relativamente frecuente, típica de pacientes polisensibilizados con alta capacidad de respuesta IgE ante diversos estímulos. También se observa como manifestación de comunidad alérgica entre alimentos de la misma familia o de familias próximas, o bien de comunidad alérgica entre alimentos vegetales y diversos pólenes. Su evolución es imprevisible, ya que el paciente puede comenzar a presentar sintomatología algún tiempo después, o bien tolerar el alimento durante toda su vida.

Otras manifestaciones clínicas. Se han atribuido diversos cuadros clínicos a alergia alimentaria, aunque no se ha podido demostrar en ellos una patogenia inmunológica, ni siquiera una etiología por alimentos, como pueden ser la urticaria crónica, rinitis y rinoconjuntivitis crónica, otitis media serosa, neuropatía por "hipersensibilidad a leche de vaca" (hemosiderosis pulmonar primaria con sensibilización a leche de vaca, síndrome de Heiner), cefalea vascular, alteraciones en la conducta, muerte súbita del lactante, vasculitis, trombopenias, síndrome nefrótico, alteraciones músculo-esqueléticas (artritis y otras conectivopatías), etc.

En la tabla V se resumen los cuadros clínicos que pueden estar relacionados con alergia alimentaria.

Diagnóstico de la alergia inmediata a alimentos

Debe plantearse a dos niveles: (1) Demostración de la existencia de reacción adversa a un alimento (*diagnóstico clínico*), mediante historia clínica y prueba de eliminación/provocación. (2) Diagnóstico del mecanismo inmunológico (*diagnóstico patológico*), con demostración de IgE específica para el o los alimentos sospechosos. Habitualmente se procede en el siguiente orden:

1.1. Historia clínica. Es esencial su elaboración detallada, recogiendo la naturaleza y gravedad de los síntomas, la edad de comienzo, los factores precipitantes y la relación temporal entre la ingesta del alimento sospechoso y el síndrome clínico (Tabla VI).

En el lactante y niño pequeño debe establecerse una cronología detallada de la alimentación, fijando las fechas de introducción de nuevos alimentos y su tolerancia. Es importante dejar reflejado la existencia o no de lactancia natural (posibilidad de paso de antígenos) y su comienzo (posibilidad de biberones previos a su instauración), fechas de introducción de nuevos alimentos y su tolerancia. Ante la presencia de síntomas gastrointestinales se valorará el estado nutricional, la repercusión sobre el crecimiento y desarrollo, descartando la existencia de un síndrome de

TABLA V

CUADROS CLÍNICOS EN POSIBLE RELACIÓN CON ALERGIA ALIMENTARIA

Signos y síntomas característicos de hipersensibilidad inmediata (mediada por anticuerpos IgE).

Suelen ser de aparición inmediata y de carácter agudo:

Cutáneo-mucosos: urticaria aguda, angioedema, eritema (a veces sólo peribucal o en zonas de contacto); prurito faríngeo, enantema, edema de glotis; prurito y rash perianal.
 Digestivos: vómitos, diarrea aguda (gastroenteritis), dolores cólicos.
 Asma y/o rinoconjuntivitis (por inhalación o junto a signos de otra localización)
 Anafilaxia generalizada.

Cuadros clínicos que frecuentemente coinciden con situaciones de alergia inmediata a alimentos, en los que la responsabilidad de esta sensibilización suele ser secundaria:

Dermatitis atópica.
 Asma bronquial y/o rinoconjuntivitis como manifestaciones aisladas.

Procesos en los que probablemente existe una patogenia inmunológica alimentaria, no mediada por IgE:

Enfermedad celíaca inducida por gluten.
 Dermatitis herpetiforme ("enfermedad celíaca de la piel").
 Enteropatías por alimentos (leche de vaca, soja, arroz, pollo), con o sin malabsorción, y lesión variable de la mucosa intestinal.
 Colitis alérgica (hemorrágica, eosinofílica).

Cuadros clínicos menos frecuentes, en los que no se ha demostrado claramente una patogenia inmunológica de hipersensibilidad alimentaria:

Urticaria crónica.
 Rinitis y rinoconjuntivitis crónica, otitis media serosa.
 Neumopatía por hipersensibilidad a leche de vaca (hemosiderosis pulmonar primaria con sensibilización a leche de vaca, síndrome de Heiner).
 Cólicos del recién nacido y lactante.
 Gastroenteritis eosinofílica.
 Enteropatía pierde-proteínas.
 Cefalea vascular (jaqueca).
 Alteraciones de la conducta: síndrome de tensión-fatiga, hiperactividad con disminución de la atención.
 Muerte súbita del lactante.
 Vasculitis.
 Trombopenias.
 Síndrome nefrótico.
 Alteraciones músculo-esqueléticas (artritis y otras conectivopatías).

malabsorción. En determinadas situaciones, según las características clínicas, serán necesarios estudios de tolerancia a disacáridos, rectosigmoidoscopia o biopsia intestinal. Debe considerarse siempre la posibilidad de una infección intestinal intercurrente.

2.1. *Diagnóstico patogénico.* La presencia de anticuerpos específicos de la clase IgE frente al o los alimentos sospechosos confirma la existencia de un mecanismo de hipersensibilidad inmediata. Su búsqueda se realiza por los métodos habituales de diagnóstico de hipersensibilidad inmediata, de los que sólo algunos se utilizan en la práctica diaria por la fiabilidad de su información, la sencillez de realización, la necesidad de un equipamiento poco costoso y su disponibilidad en el comercio:

a) La *cuantificación de IgE sérica total* es útil en cuanto que permite distinguir entre atópicos y no atópicos, si bien deben tenerse en cuenta sus limitaciones, derivadas fundamentalmente de la amplia variabilidad

de los valores normales de la población general y de la posibilidad de su elevación en procesos no atópicos.

b) Proporciona más información la determinación de *IgE específica* frente al o los alimentos sospechosos, bien mediante *pruebas cutáneas de lectura inmediata* para anticuerpos fijos a tejidos, o bien mediante métodos serológicos (RAST, CAP, ELISA, etc.) para *anticuerpos IgE circulantes*, cuya eficacia es similar. En su práctica es fundamental un control de calidad riguroso del material alergénico utilizado, dada su gran variabilidad. Igualmente, para la interpretación correcta de los resultados deben conocerse sus limitaciones, su especificidad y su sensibilidad. La prueba cutánea por punción (prick-test), cuando se realiza correctamente con un antígeno de calidad, es el método de elección para la confirmación del diagnóstico de hipersensibilidad a alimentos mediada por IgE en pacientes con signos clínicos comprobados. Sus resultados son mejores cuando los antígenos utilizados proceden de alimentos ricos en proteínas estables (le-

TABLA VI

DATOS DE ANAMNESIS A RECOGER ANTE UN PACIENTE CON UN CUADRO CLÍNICO DE POSIBLE ALERGIA ALIMENTARIA

Alimento sospechoso de haber producido la reacción.
Cantidad ingerida de dicho alimento.
Tiempo transcurrido entre la ingestión del alimento y el comienzo de los síntomas.
Descripción de los síntomas ocasionados.
Producción de síntomas análogos con ocasión de la ingestión del mismo alimento anteriormente.
Necesidad de la existencia de otros factores (p.ej.: ejercicio) para producir síntomas.
Tiempo transcurrido desde la última reacción al alimento sospechoso.

che de vaca, huevo, pescado, frutos secos). Con otros alimentos (hortalizas, frutas frescas, etc) de contenido antigénico lábil, puede ser preferible realizar prick-test con el alimento fresco (método *prick-prick*).

Aunque su valor predictivo positivo es menor del 50%, una prueba cutánea negativa prácticamente excluye la probabilidad de aparición de síntomas en la prueba de provocación, salvo que estemos ante una reacción no mediada por IgE. Sin embargo, a veces, en lactantes pequeños, las pruebas cutáneas pueden ser negativas, a pesar de una hipersensibilidad clínica manifiesta. Si la sensibilización continúa, estas pruebas suelen hacerse positivas algunos meses más tarde.

Los procedimientos modernos, semicuantitativos, para determinación de IgE específica en sangre (CAP-System), además de objetivar hipersensibilidad, pueden ser útiles para establecer con qué probabilidad la prueba de provocación va a ser positiva, como se ha demostrado en estudios de diversas series de pacientes. Sin embargo, esta orientación sólo es aplicable a pacientes con las mismas características que la serie estudiada, ya que la dinámica de formación de IgE está muy influida por la edad y las características del proceso patológico en cuestión.

c) *Otros métodos* aplicables al diagnóstico de las reacciones de hipersensibilidad inmediata han quedado superados o descartados (p.e., la transferencia pasiva o prueba de Prausnitz y Küstner) o, en general, son más complejos y necesitan mayor equipamiento y personal experto, son propios de centros especializados y se utilizan preferentemente en investigación (p.ej.: determinación de histamina y otros mediadores).

Se han recomendado diversos procedimientos de laboratorio para confirmar o descartar el diagnóstico de hipersensibilidad a alimentos. En algunos estudios se ha recomendado la determinación de anticuerpos IgG o subclases de IgG como ayuda diagnóstica. Sin embargo, parece claro que la presencia de IgG específica para alimentos sólo es un signo de exposición al mismo y no una auténtica sensibilización. No se ha comprobado que estos datos puedan servir de ayuda en el diagnóstico de hipersensibilidad alimentaria. Tampoco se ha comprobado que la detección de complejos inmunes circulantes o las pruebas de activación linfocitaria (transformación linfoblástica, inhibición de la migración leucocitaria, patrones de citocinas, etc.) con antígenos alimentarios sean en la actualidad útiles para el diagnóstico clínico.

3.1. *Comprobación de la relación ingesta-síntomas.* Los datos de historia clínica y de IgE específica suelen ser suficientemente orientativos sobre los alimentos que pueden estar involucrados, para plantear una dieta de eliminación terapéutica. Sin embargo, la dieta de eliminación puede dar lugar a diversos problemas en el paciente o su entorno. Por ello, su instauración debe estar plenamente justificada, mediante la realización de una prueba de provocación que confirme que, actualmente, ese o esos determinados alimentos pueden producir síntomas.

Si no existen datos que orienten hacia algún alimento determinado, hecho poco probable en la alergia a alimentos de tipo inmediato, es útil comenzar observando la dieta del paciente, mediante un *diario de alimentación* en el que se registren la fecha y momento de la ingestión de los distintos alimentos y la presencia o no de síntomas, intentando relacionarlos. Cuando se sospecha de algún alimento determinado, se procede a su *eliminación de forma aislada* durante unas dos semanas, seguido, cuando han desaparecido los síntomas, de su reintroducción (prueba de provocación), para poder hacer una valoración correcta.

Si el diario de alimentación tampoco permite identificar los alimentos responsables, se recurre a una *dieta de eliminación de prueba*, única o múltiple, en la que se retiran uno o más alimentos de la dieta y, si no se observa mejoría, se reintroducen y eliminan otros de forma rotatoria.

Las dietas de eliminación amplias sólo deben emplearse como procedimiento diagnóstico durante períodos cortos de tiempo. Deberán ir seguidas de una prueba de provocación, excepto con aquellos alimentos que hayan causado reacciones anafilácticas o intensas, que puedan poner en peligro la vida del paciente.

La *prueba de provocación* se realizará sólo en pacientes con buen estado general y siempre en medio hospitalario, no sólo para contar con los medios suficientes para efectuar un tratamiento inmediato de cualquier respuesta clínica intensa, sino también para poder hacer una valoración objetiva del resultado. Las pruebas de provocación domiciliarias, sólo observadas por el paciente o sus familiares, aparte del riesgo que conllevan, pueden interpretarse erróneamente. Cuando la sintomatología esperada es de carácter agudo y fácilmente objetivable, como ocu-

re en la mayor parte de los casos de alergia de tipo inmediato a alimentos, es suficiente realizar la prueba de provocación por método abierto o por método ciego simple. En otras situaciones, cuando los síntomas son atípicos, sin relación directa con la ingesta o de difícil objetivación, especialmente en niños mayorcitos y adultos, puede ser preferible efectuarla por método ciego doble, más lento que la provocación abierta, pero de resultados, en estas situaciones, mucho más fiables.

Las contraindicaciones de la prueba de provocación diagnóstica quedan limitadas a aquellos casos en que pueda peligrar la vida del paciente (antecedentes de choque anafiláctico, edema de glotis, urticaria generalizada de repetición) en relación con el alimento en estudio, o exista una evidencia reciente de relación entre la ingesta del alimento y la aparición de síntomas, junto con IgE específica detectable. En lactantes, la prueba de provocación se retrasará hasta que esté indicada la introducción del alimento problema en su dieta.

Diagnóstico diferencial

Debe plantearse con tres grupos de situaciones. En primer lugar, con otros procesos cuyos síntomas son similares a los de la alergia alimentaria, pero que no son debidos a alimentos: fundamentalmente entidades clínicas que cursan con vómitos y diarrea. En segundo lugar, con otras reacciones adversas a alimentos de probable base inmunológica, no mediadas por IgE. Finalmente con reacciones adversas a alimentos o aditivos alimentarios no producidas por mecanismo inmunológico: son las llamadas falsas alergias alimentarias.

Los *vómitos* son particularmente frecuentes en lactantes y niños y, a menudo, se atribuyen a alergia alimentaria. El vómito es *únicamente un signo clínico*, no un diagnóstico, y su causa puede radicar fuera del tracto gastrointestinal. Es importante valorar si se acompaña o no de otros síntomas gastrointestinales, como meteorismo y diarrea. En el lactante, por lo demás sano, posiblemente la causa más frecuente de vómitos de repetición sea el reflujo gastroesofágico.

También la *diarrea* es un problema clínico que frecuentemente es atribuido a alergia alimentaria y se trata con diversas manipulaciones dietéticas, sin realizar un diagnóstico correcto, lo cual no es raro que conduzca a una alimentación insuficiente y malnutrición. Sus causas son muy variadas. Cuando la diarrea persiste o es imposible una alimentación adecuada, es imprescindible su evaluación detallada clínica, funcional y anatómica que permita el establecimiento de un diagnóstico y tratamiento correctos.

Otras *reacciones adversas a alimentos de probable base inmunológica no IgE*. El principal problema diagnóstico lo plantean las formas exclusivamente gastrointestinales de hipersensibilidad inmediata a alimentos, con respecto a las gastroenteropatías por alimentos, conocidas, en general, co-

mo *intolerancia a proteínas alimentarias*, en la que se incluyen entidades del tipo de la enteropatía sensible a o inducida por proteínas alimentarias, la colitis alérgica, hemorrágica o eosinofílica, etc., que se comentan más adelante.

Reacciones adversas a alimentos de mecanismo no inmunológico. Son muy numerosas las posibles reacciones adversas y procesos producidos por alimentos, como las reacciones tóxicas (agentes tóxicos naturales, contaminantes microbianos o ambientales, aminas vasoactivas contenidas en los alimentos, etc.) y las reacciones de intolerancia de carácter metabólico, como las intolerancias a azúcares o a aditivos alimentarios). Generalmente, una anamnesis cuidadosa permite su diferenciación sin mayores dificultades.

Tratamiento

El único tratamiento eficaz comprobado de la alergia inmediata a alimentos es evitar el contacto y la ingesta del alimento sensibilizante, mediante una dieta de eliminación estricta. Por el momento, no hay datos experimentales ni clínicos suficientemente contrastados sobre una posible utilización de inmunoterapia inyectable, como existe, para el tratamiento de la sensibilización a otros alérgenos (p.ej.: pólenes, veneno de insectos) o de desensibilización oral.

Dietas de eliminación

Se ha comprobado que las dietas de eliminación conducen a la pérdida de reactividad a muchos alimentos (desarrollo de tolerancia clínica) en alrededor de un tercio de los niños y adultos después de uno o dos años. Sin embargo, no es un procedimiento inocuo y su realización puede entrañar dificultades, especialmente en pacientes con sensibilizaciones múltiples o reacciones anafilácticas intensas ante cantidades mínimas del alimento sensibilizante.

La instauración de una dieta de eliminación es comparable a la prescripción de un medicamento, ya que siempre conlleva una relación beneficio-riesgo en equilibrio inestable. En consecuencia, deben tomarse las medidas diagnósticas adecuadas antes de instaurar dietas especiales. Lamentablemente, con demasiada frecuencia se han indicado dietas de eliminación amplias, basadas sólo en una historia clínica, pruebas habituales de hipersensibilidad (p.e.: pruebas cutáneas y RAST) o métodos con poco o ningún fundamento, con el riesgo de conducir al paciente a una malnutrición grave o al retraso en el diagnóstico de enfermedades graves subyacentes.

Por todo ello, su establecimiento y mantenimiento deben seguir los siguientes pasos:

1.1. Identificación cierta de las sensibilizaciones alimentarias responsables en ese momento del o de los cuadros clínicos que sufre el paciente (diagnóstico clínico de certeza).

2.1. Instauración de la dieta de eliminación necesaria, que debe cumplir dos funciones: retirar todos los alérgenos sensibilizantes responsables de síntomas y proporcionar una alimentación nutricionalmente adecuada.

3.1. Asegurar una buena colaboración, tanto del paciente, como de los padres, educadores, etc. en la realización de la dieta de eliminación.

4.1. Comprobación periódica de instauración de tolerancia.

Problemas de la dieta de eliminación

Al realizar una dieta de eliminación pueden surgir problemas de diverso tipo, nutricionales, de cumplimiento, psicosociales y problemas ante la reintroducción de un alimento que se había suprimido.

1. Problemas nutricionales

Los efectos sobre la nutrición del niño pueden ser importantes, en especial cuando la dieta afecta al lactante o deben retirarse alimentos básicos. Desde el punto de vista nutricional, es imprescindible considerar dos aspectos al instaurar una dieta de eliminación. Primero, el conocimiento de las necesidades nutricionales básicas, tanto en calorías y proteínas como en vitaminas y minerales. En segundo lugar, establecer la situación nutricional del paciente, ya que las dietas de eliminación estrictas pueden ocasionar deficiencias en individuos de cualquier edad y mucho más en el niño en crecimiento. En la prevención de estas posibles alteraciones y para asegurarse de que la dieta prescrita es la adecuada desde el punto de vista nutricional, puede ser aconsejable la opinión de un especialista en nutrición. Al mismo tiempo es fundamental la información y educación de la familia.

2. Problemas de cumplimiento

El cumplimiento de una dieta de eliminación no sólo lleva implicada la colaboración del paciente, sus padres y su entorno inmediato, sino también de otros niveles de la sociedad (productores y distribuidores de alimentos, restaurantes, administraciones públicas, etc.). Es necesaria una educación sanitaria en todos ellos, junto con apoyo y supervisión continuados.

La información de la familia y del niño debe ser proporcionada a las características de su proceso. Hay que instruir adecuadamente a cada paciente, teniendo en cuenta su edad, tipos de alérgenos alimentarios, alimentos con posible antigenicidad o

alergenicidad cruzada, intensidad de la sensibilización y características de la historia clínica. Se abordarán aspectos relativos al conocimiento de la enfermedad y su tratamiento, alimentos a evitar y alimentación de sustitución, existencia de fuentes ocultas de los alimentos implicados (p.e., ovalbúmina, proteínas lácteas, soja, etc.), empleados como aditivos de otros. Es fundamental la lectura cuidadosa de las etiquetas de los alimentos preparados comercialmente con sus listas de ingredientes, comprendiendo su significado. El control del etiquetado debe ser permanente, incluso para alimentos consumidos habitualmente, ya que los ingredientes de muchos productos pueden cambiar a lo largo del tiempo. Cuando un paciente reaccione ante un alimento que no debería causar una reacción alérgica, él mismo o sus familiares deben tener la precaución de guardar una porción para que pueda ser analizada en un laboratorio capaz de medir pequeñas cantidades de proteínas alimentarias contaminantes.

Igualmente, el paciente y su entorno deben estar perfectamente informados de las consecuencias de las transgresiones, incluso mínimas, como, por ejemplo, la exposición a humos o vapores de cocinar alimentos a los que el paciente está sensibilizado.

En todo estos aspectos son de inestimable valor, a nivel informativo y educacional, las asociaciones de pacientes o familiares. En España existe desde hace algunos años la Asociación Española de Padres y Niños con Alergia a Alimentos^(*).

3. Problemas psicosociales

El paciente con alergia alimentaria necesita una educación y apoyo continuado para sobrellevar su situación. Esta necesidad es más evidente cuando, además, se han producido cuadros de asma grave o de anafilaxia.

Sin embargo, el médico, en su actuación, debe procurar en todo momento no inducir angustia en el paciente o su familia. Deben prevenirse situaciones de sobreprotección, con las posibles alteraciones de la relación familiar que pudieran producirse.

El profesional sanitario debe ser consciente del enorme trabajo y sobrecarga emocional que recae sobre los pacientes y sus familias cuando se prescribe una dieta de eliminación. El tiempo necesario para comprar alimentos y preparar estas comidas especiales aumenta considerablemente, comer en restaurantes se hace muy difícil o, en muchos casos, imposible, y, con frecuencia, hay que reducir las comidas en casa de los amigos o en la escuela. Igualmente, el presupuesto destinado a alimentación aumenta sensiblemente.

^{*}Asociación Española de Padres y Niños con Alergia a Alimentos (AEPNAA). Avda. Manzanares, 58 (Local 1). 28019 Madrid. Telf.: 91 560 94 96 – aepnaa@teleline.es.

4. Problemas de la reintroducción

Es posible que cuando un paciente llega a tolerar clínicamente un alimento muestre cierta dificultad, cuando no una clara animadversión, para aceptar los alimentos suprimidos durante años. A veces, este rechazo depende de la existencia de otras reacciones adversas al alimento no mediadas por IgE (p.ej.: dieta sin leche de vaca y déficit secundario de lactasa).

Dieta de sustitución en alergia alimentaria

En general, siguiendo las indicaciones mencionadas anteriormente, es posible seguir de forma correcta una dieta de eliminación en el niño con alergia alimentaria. Sin embargo, existen algunas circunstancias en que se impone, además, recurrir a productos de sustitución especiales, como la *alergia a proteínas de leche de vaca en el lactante*. En estos casos, como sustitución, se puede optar por fórmulas con otra fuente proteica intacta (soja) y fórmulas extensamente hidrolizadas de proteínas de leche de vaca (PLV).

Las fórmulas basadas en proteína de soja, potencialmente con alto poder antigénico, pueden utilizarse cuando no exista asociada clínica de enteropatía y malabsorción. Aunque estas fórmulas parecen adecuadas desde el punto de vista nutricional, tienen un alto contenido en fitoestrógenos, así como concentraciones elevadas de aluminio y manganeso. Por ello, mientras no se disponga de más datos sobre sus posibles efectos a largo plazo, parece prudente no utilizar fórmulas de soja sin una clara indicación médica.

Probablemente, las fórmulas extensamente hidrolizadas de PLV, cuyos péptidos deben tener un peso molecular inferior a 5000 daltons, sean la mejor alternativa en el tratamiento de la alergia inmediata a PLV. Sin embargo, este dato no es totalmente fiable, ni garantiza la seguridad de su empleo, ya que los lactantes altamente sensibilizados pueden presentar reacciones adversas a estos hidrolizados. Por ello, antes de comenzar la administración de una fórmula extensamente hidrolizada, debe evaluarse su posible alergenicidad individualmente en cada niño, mediante pruebas cutáneas (prick-test) con una muestra fresca de la fórmula reconstituida y, a continuación, debe probarse su tolerancia, mediante prueba de provocación abierta, bajo la supervisión del especialista, antes de que pueda ser utilizada en la alimentación habitual. Si no se toleran, se recurrirá a fórmulas elementales de aminoácidos. Las fórmulas parcialmente hidrolizadas, también conocidas como "fórmulas H.A." nunca deben emplearse en el tratamiento de la alergia a PLV, ya que una parte de sus proteínas se encuentra intacta o en forma de grandes péptidos, conservando todo su poder alérgico.

Tratamiento farmacológico

Es puramente sintomático. Se utilizan los fármacos que habitualmente se emplean en el tratamiento de

los síntomas desencadenados por cualquier reacción de hipersensibilidad inmediata (fundamentalmente, antihistamínicos, β -adrenérgicos y corticosteroides). La farmacoterapia puede complementar, pero nunca sustituir a las medidas dietéticas. Es útil en determinadas circunstancias, como la persistencia de los síntomas atribuidos a alergia a alimentos, a pesar de los esfuerzos por llevar a cabo una dieta bien controlada. Generalmente son situaciones en las que no se ha identificado correctamente a los alérgenos responsables o existen múltiples sensibilizaciones que hacen casi imposible una dieta de eliminación correcta. Igualmente, el tratamiento farmacológico es necesario cuando el paciente ingiere inadvertida o conscientemente el alimento sensibilizante. Los pacientes con historia de reacciones anafilácticas o graves, deberán ser adecuadamente instruidos del tratamiento necesario y llevar consigo adrenalina autoinyectable y un brazalete o placa indicadores de su sensibilización.

Se han publicado diversos estudios sobre el empleo del cromoglicato disódico por vía oral en el tratamiento a largo plazo de la alergia alimentaria, que han dado resultados contradictorios. En ensayos adecuadamente controlados se ha comprobado que su efectividad no es mayor que la del placebo. Tampoco, hasta ahora, hay datos fiables que justifiquen el uso de otros medicamentos, como ketotifeno, indometacina, etc. en el tratamiento de fondo de la alergia inmediata a alimentos.

Evolución

Es difícil prever la evolución de la alergia inmediata a alimentos. En el niño, es creencia general que tiende a disminuir o desaparecer en los dos o tres primeros años de vida, pero no está suficientemente documentado. Probablemente sea así en las reacciones adversas a alimentos no mediadas por IgE, como muchas enteropatías por PLV, cuya base inmunológica no está aún claramente definida. Algunos estudios muestran que la alergia de tipo inmediato a alimentos tiende a remitir antes en aquellos pacientes cuya sintomatología empieza en los primeros años de vida que cuando lo hace con posterioridad. Determinados alimentos, como la leche de vaca o el huevo se toleran antes, mientras que con otros, como el pescado, leguminosas y frutos secos, la intolerancia clínica puede persistir durante muchos años o, incluso, para siempre (Fig. 2). Sin embargo, las excepciones individuales son numerosas.

La aparición de tolerancia clínica a un alimento (prueba de provocación negativa) no suele acompañarse de una desaparición de la IgE específica, ya que ésta pueden detectarse por prueba cutánea o en suero en aproximadamente las dos terceras partes de los pacientes tolerantes. Por ello, en niños con alergia alimentaria confirmada, debe confirmarse a intervalos regulares (cada 6 a 12 meses, según la intensidad de la sensibilización y la situación clínica previa) la persistencia de la sensibilización, mediante prueba de provocación controlada en medio hospitalario.

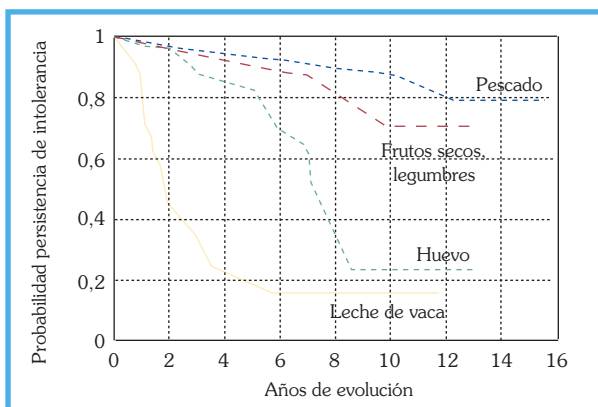


Fig. 2. Evolución, bajo dieta de eliminación, de la alergia a los principales grupos de alimentos en el niño, estimada mediante análisis de supervivencia de Kaplan-Meier. La probabilidad de persistencia de intolerancia está expresada en tanto por uno. Datos de: García Ara MC, Boyano Martínez T, Martín Esteban M, Martín Muñoz F, Díaz Pena JM, Ojeda Casas JA. Actitud terapéutica y pronóstico en la alergia a alimentos. *Allergol Immunopathol* 1996; 24 (supl 1): 31-35.

Prevención

Dada la especial prevalencia de la alergia alimentaria en el niño y, más aún, en el niño pequeño, parece deseable una actuación preventiva en esta época de la vida. Se dispone de suficiente evidencia sobre la importancia que en pacientes con alto riesgo atópico pueden tener los primeros contactos (cantidades mínimas o administración esporádica) con el alimento. Por ello, una actuación profiláctica eficaz deberá basarse en dos aspectos:

1. La identificación precoz, perinatal, de los sujetos de alto riesgo atópico.

2. La instauración de unas normas dietéticas destinadas a evitar el contacto esporádico o con dosis mínimas de alimentos potencialmente sensibilizantes.

1. Métodos para predicción y detección precoz de alergopatías. No existe un procedimiento eficaz para la predicción de alergopatías. En la actualidad, la identificación del recién nacido de riesgo atópico se basa fundamentalmente en dos parámetros: la presencia de historia familiar (padres y hermanos) de atopia y la determinación de niveles de IgE en sangre de cordón umbilical, ambos con baja sensibilidad y especificidad. Sin embargo, mientras no se disponga de marcadores genéticos que permitan la identificación de familias de riesgo, debemos aprender a realizar y confirmar una historia clínica familiar de atopia, para instaurar medidas de prevención, a pesar de su baja especificidad y su menos que ideal sensibilidad. Para la selección de candidatos a incluir en estudios de prevención, la determinación de IgE en sangre de cordón umbilical continúa siendo el mejor método.

2. Instauración de normas dietéticas. Se han propuesto diversas actitudes para reducir la incidencia de alergopatías, como la lactancia materna exclusiva, dieta en la madre de los alimentos más alergénicos, uso de fórmulas "hipoalergénicas", retraso en la introducción de alimentos sólidos potencial-

mente alergénicos, reducción en la exposición a los ácaros del polvo doméstico, a los animales y al humo del tabaco, así como la asistencia a guarderías con su correspondiente riesgo de infección. Es difícil la valoración y comparación de los resultados de estos programas, debido a la gran variabilidad en el diseño de los protocolos y en los criterios de diagnóstico aplicados.

Su empleo combinado ha dado buenos resultados, aunque su aplicación está muy limitada por la mala sensibilidad y especificidad de los marcadores de riesgo atópico disponibles, la dificultad en conseguir una desalergenización alimentaria y ambiental correcta, los niveles de cumplimiento de la familia y cuidadores, la falta de conocimientos y compromisos por parte de la sociedad y el alto coste de estas medidas.

ALERGIA A ALIMENTOS NO MEDIADA POR IgE

Son situaciones clínicas transitorias, típicas, pero no exclusivas, del lactante, caracterizadas por síntomas gastrointestinales diversos y repercusión variable en el estado nutricional del paciente. Están en relación, fundamentalmente, con la ingestión de PLV, mejorando al suprimir estas proteínas de la dieta, con recaída tras la reexposición. Un cuadro similar puede aparecer, aunque más raramente, en relación con otros alimentos, como soja, huevo, arroz, pollo y pescado, en asociación o no con la leche de vaca. Su patogenia no está totalmente aclarada, aunque es sugerente un mecanismo inmunológico. Igualmente, las lesiones anatómicas del intestino, cuando existen, son de localización e intensidad variables.

La ausencia de una patogenia evidente conocida y la variabilidad de las lesiones morfológicas, si las hay, así como la gradación y superposición de signos y síntomas que pueden encontrarse, hace aconsejable que estas situaciones se integren en un síndrome común, denominado en muchas ocasiones como "intolerancia a proteínas alimentarias".

No se ha comprobado la importancia de la gastroenteritis aguda como factor predisponente, aunque es frecuente este antecedente y algunos piensan que la diarrea prolongada o incluso la diarrea intratable que puede seguir a algunas gastroenteritis del lactante, se debe a la instauración temporal de una enteropatía por PLV. También parece que la lactancia artificial precoz es un factor de riesgo importante: la mayor parte de los pacientes no han recibido lactancia materna o sólo durante muy poco tiempo. Es posible que la menor incidencia actualmente observada de algunos de estos procesos esté en relación con la mayor frecuencia y prolongación de la lactancia materna, así como con la mejor calidad de las leches de fórmula empleadas en la alimentación del lactante.

Formas clínicas y anatomoclínicas

Los síntomas son variables, casi siempre comienzan durante el primer semestre de vida y, en general, de forma progresiva. La diarrea es el signo más frecuente, aunque de características diversas, desde la presencia persistente de heces blandas y abundantes, a episodios de diarrea líquida y explosiva. En algunas ocasiones son predominantes los cuadros de vómitos y diarrea profusos, con posible deshidratación y shock, índice de afectación del intestino delgado y grueso (*enterocolitis por proteínas alimentarias*). La presencia de sangre en heces indica una participación cólica o rectocólica. La distensión abdominal y la irritabilidad son síntomas inespecíficos que pueden deberse a múltiples causas, aunque pueden ser los primeros indicadores de la enfermedad, lo mismo que una curva de peso plana. Pueden objetivarse signos físicos y analíticos de malabsorción y detención de la curva de crecimiento.

Cuando existe enteropatía, (*enteropatía por proteínas alimentarias*) pueden observarse, por biopsia duodenoyeyunal, lesiones de la mucosa del intestino delgado, de características variables e inespecíficas. En los últimos años su incidencia ha ido disminuyendo progresivamente. En la mayoría de los casos de niños no tratados se encuentra una atrofia parcial moderada o intensa de carácter parcheado, con infiltrado moderado de linfocitos intraepiteliales, pero no de eosinófilos. Menos frecuentemente puede observarse una atrofia subtotal como en la enfermedad celíaca inducida por gluten. Estas alteraciones revierten con una dieta exenta de leche de vaca o de otros alimentos responsables y reaparecen con su reintroducción.

Mediante análisis inmunohistoquímico se ha observado un aumento en la lámina propia de la mucosa del intestino delgado de células CD4+ activadas y de células CD8+ intraepiteliales, que se normalizan con la dieta de exclusión y retornan a los valores previos con la provocación. Estos hallazgos podrían indicar la intervención de estas células activadas, posiblemente mediante la liberación de citocinas, en la producción de la lesión mucosa en los pacientes.

Otra forma bien caracterizada es la llamada *colitis alérgica*, entidad que afecta predominantemente a recién nacidos y lactantes durante los primeros meses de vida. Se presenta como una diarrea mucosanguinolenta o rectorragia, en ausencia de fisura rectal o gastroenteritis infecciosa. La rectosigmoidoscopia muestra una mucosa eritematosa, con o sin pérdida del patrón vascular, ulceraciones o sangrado. A veces puede tener un aspecto granular, sugestivo de hiperplasia nodular linfoide. Lo mismo que en la enteropatía, las lesiones suelen alternar con zonas de mucosa normales (lesión parcheada). El principal hallazgo histológico es un infiltrado de eosinófilos, que parecen ser los responsables directos de la lesión tisular, pero se desconoce la causa última que provoca esta infiltración y activación. Al contrario de lo que ocurre con la enteropatía por PLV, parece que su frecuencia en nuestro medio va en aumento.

Su comienzo ocurre poco después de la introducción de leche de vaca o, más raro, de otras proteínas (soja), y puede ser de carácter agudo, a las pocas horas del inicio de la alimentación con el alimento responsable. Otras veces existe un intervalo más prolongado entre la introducción de leche de vaca y el comienzo de los síntomas. También puede presentarse en niños con lactancia materna exclusiva, por paso del antígeno a través de la leche materna; en estos casos, los síntomas pueden ser más leves y de comienzo más tardío.

Diagnóstico

No se dispone de métodos de laboratorio o bioquímicos suficientemente específicos y sensibles, por lo que el diagnóstico de la intolerancia a proteínas alimentarias se basa, generalmente, en criterios clínicos, mediante eliminación y reexposición con leche de vaca u otro alimento implicado. La provocación se realiza habitualmente después de 2 a 3 meses de dieta de eliminación, preferentemente después de los 6 meses de edad. Algunos autores han aplicado criterios anatomoclínicos, incluyendo biopsias de intestino delgado antes y después de la provocación con PLV. Sin embargo, no siempre hay buena correlación entre la respuesta clínica y la recaída histológica después de la provocación. Además la valoración de la respuesta clínica puede ser difícil, debido a que, en muchos casos, los síntomas desaparecen gradualmente tras la eliminación y pueden tardar varios días en reaparecer tras la reexposición. Por todo ello, teniendo, además, en cuenta la autolimitación del proceso, en la práctica clínica no es habitual la realización de biopsia duodenoyeyunal diagnóstica.

Cuando existe lesión de la superficie intestinal a nivel del borde en cepillo, puede haber una deficiencia secundaria de disacaridasas (lactasa). Este factor contribuye a la perpetuación de los síntomas y dificulta el diagnóstico diferencial entre intolerancia a PLV e intolerancia a la lactosa. Por ello, antes de realizar una provocación para el diagnóstico definitivo de intolerancia a PLV, debe excluirse la existencia de intolerancia a la lactosa.

Tanto en la enteropatía sensible a leche de vaca como en la colitis del lactante, no se detectan habitualmente anticuerpos IgE específicos para PLV. Si los hay, su presencia suele ser transitoria o, incluso, sólo se detectan cuando ya se ha alcanzado la tolerancia clínica a PLV. Estos datos parecen indicar que la hipersensibilidad inmediata, si existe, no es un mecanismo importante en el desencadenamiento o mantenimiento de la enteropatía o de la colitis por PLV.

Ocasionalmente, en su evolución, puede observarse que, tanto la enteropatía como la colitis por PLV, coexisten o son seguidas, al efectuar prueba de provocación, por la aparición de síntomas característicos de una reacción de hipersensibilidad inmediata, con signos extradigestivos (urticaria, angioedema), junto con la evidencia de IgE específica para

PLV. Por otra parte, es posible que, en algunos casos, la colitis alérgica del lactante sea un factor predisponente para la aparición, algunos años más tarde, de enfermedad inflamatoria intestinal.

Tratamiento

Habitualmente, estos procesos son autolimitados en el tiempo. Bajo dieta exenta de PLV, o de las otras proteínas implicadas, tanto el cuadro clínico, como las lesiones anatómicas, si las hay, suelen remitir en unos meses y, prácticamente, en todos los casos antes de los tres años de edad. El tratamiento sustitutivo de elección se hace con fórmulas a base de hidrolizados extensivos de PLV. Se pueden utilizar tanto de caseína, como de seroproteínas o mixtos (caseína y seroproteínas). Los derivados de soja no son aconsejables, debido a que se ha observado que hasta un 15% de los niños con enteropatía por PLV pueden llegar a presentar

también intolerancia a la soja. Cuando los pacientes no toleran estos preparados o la afectación intestinal es importante, hay que recurrir a fórmulas elementales, a base de L-aminoácidos, incluso en nutrición enteral a débito continuo o en nutrición parenteral.

No se dispone de ningún método para la identificación de los pacientes de riesgo con predisposición a intolerancia a PLV primaria. En todo caso, no se ha demostrado que los niños atópicos, o de riesgo atópico, tengan mayor predisposición que otros para tener intolerancia a PLV. Respecto a la prevención secundaria, deberán evitarse las situaciones de riesgo, anteriormente indicadas, como la lactancia artificial precoz y las gastroenteritis infecciosas. Por ello, la lactancia materna prolongada, al menos hasta los 6 meses, es la mejor medida de prevención disponible. Igualmente, en niños lactados artificialmente, la utilización de fórmulas adaptadas, sobre todo después de una gastroenteritis aguda, es una medida eficaz de prevención de las enteropatías secundarias ¹

BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA

- American Academy of Allergy and Immunology (Committee on Adverse Reactions to Foods), National Institute of Allergy and Infectious Diseases. Adverse reactions to foods. National Institutes of Health, NIH Publication 1984; 84-2442. Primer estudio moderno en el que se aborda con rigor la problemática conceptual, clínica, diagnóstica y terapéutica de la alergia alimentaria.
- Bruijnzeel-Koomen C, Ortolani, C, Aas K, et al. Adverse reactions to food (an EAACI position paper). *Allergy* 1995; 50: 623-35. Documento consensuado, en el que se establece la definición de los términos de reacción adversa, alergia alimentaria, la patogenia de la alergia alimentaria, la caracterización de los alérgenos alimentarios, síntomas clínicos de alergia alimentaria. Se revisan las reacciones adversas a alimentos de mecanismo no inmunológico y el diagnóstico de la alergia e intolerancia a alimentos. Finalmente se discute la prevención y el manejo del paciente con alergia alimentaria.
- Ballabriga A, Moya M, Martín Esteban M, et al. Recomendaciones sobre el uso de fórmulas para el tratamiento y prevención de las reacciones adversas a proteínas de leche de vaca. (Comité de Nutrición de la Asociación Española de Pediatría). *An Esp Pediatr* 2001; 54: 372-9. Documento del Comité de Nutrición de la AEP que revisa y aconseja las indicaciones clínicas de las fórmulas especiales y sus aspectos nutricionales.
- Martín Esteban M. Los problemas de la dieta en pacientes con alergia alimentaria. *Pediatríka* 2000; 20: 249-53. Se describen las dificultades que pueden aparecer en la instauración y en el transcurso de una dieta de eliminación en el niño con alergia alimentaria.
- Metcalfe DD, Sampson HA, Simon RA, eds. Food allergy: adverse reactions to foods and food additives. Oxford: Blackwell Science, 1997. Tratado general sobre alergia alimentaria, con revisión de sus aspectos básicos y clínicos.
- Pascual CY, Crespo JF, Martín Esteban M. The relevance of cross-reactivity in pediatric allergy. *Clin Rev Allergy Immunol* 1997; 15: 449-60. Revisión sobre la reactividad cruzada entre alérgenos y su importancia en la clínica.
- Saarinen UM, Kajosaari M. Breastfeeding as prophylaxis against atopic disease: prospective follow-up study until 17 years old. *Lancet* 1995; 346: 1065-9. Estudio prospectivo sobre la utilidad de la lactancia materna en la prevención de enfermedades atópicas.
- Sampson HA. Food allergy. Part 1: immunopathogenesis and clinical disorders. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 717-28. Part II: diagnosis and management. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 981-9. Revisión actualizada sobre alergia alimentaria.
- Sampson HA, Anderson JA, eds. Classification of gastrointestinal diseases of infants and children due to adverse immunologic reactions to foods. Proceedings of a workshop. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 30, (Supplement 1): S1-S96. Situación actual de los conocimientos sobre gastroenteropatías inducidas por alimentos, evaluada por un grupo de expertos.
- Sicherer SH. Food allergy: when and how to perform oral food challenges. *Pediatr Allergy Immunol* 1999; 10: 226-34. Indicaciones, utilidad y forma de realización de la prueba diagnóstica de provocación en alergia alimentaria en el niño.

La calidad de los aceites y grasas de fritura

M. C. Dobarganes, J. Velasco, G. Márquez-Ruiz

INSTITUTO DE LA GRASA (CSIC). SEVILLA

RESUMEN

En esta revisión se comentan los problemas específicos del control de calidad de los aceites y grasas de fritura, consecuencia de las diferencias entre los procesos continuo y discontinuo, de la atomización del sector de preparación de productos fritos, de la existencia de un elevado número de variables y de la complejidad de las reacciones que se desarrollan en el proceso.

Se revisan los principales métodos analíticos detallándose los de mayor interés. Por una parte, los métodos objetivos que permiten evaluar los nuevos compuestos originados durante el proceso de fritura, entre los cuales destacan la determinación de compuestos polares y polímeros, los índices analíticos relacionados con algunas de las modificaciones que tienen lugar en el proceso, que pueden ser de utilidad en las industrias de freidoras continuas, y los criterios subjetivos que indican indirectamente la existencia de una alteración apreciable. Se comenta la situación de los aceites y grasas de fritura en distintos países en función de las regulaciones existentes y, finalmente, se resumen las perspectivas del sector detallándose las recomendaciones más adecuadas para mejorar la calidad de los aceites y grasas de fritura en el momento actual.

Palabras clave: Aceites y grasas. Proceso de fritura. Evaluación de calidad. Métodos de control.

ABSTRACT

In this review, the main problems associated to the quality control of used frying fats are discussed. These problems are a consequence of the different kind of processes, i.e. continuous and discontinuous processes, of the high number of variables involved, and of the specific characteristics of the frying sector.

The analytical methods applied to the evaluation of frying fats are reviewed. On one hand, methods allowing determination of the new compounds formed during the process are detailed. Among them, quantitation of polar compounds and polymers stand out. On the other hand, methods based on simple useful techniques, with special reference to rapid methods to be applied in situ, are commented. The situation in different European countries is analyzed with respect to both the official regulations limiting degradation of used frying fats for human consumption and the corresponding quality of used frying fats. Finally, trends and needs for improving the present quality of used frying fats and oils are summarized.

Key words: Fats and oils. Frying process. Quality evaluation. Analytical methods.

INTRODUCCIÓN

La fritura es el proceso culinario que consiste en introducir un alimento en un aceite o grasa a elevada temperatura, en presencia de aire, durante un corto periodo de tiempo.

Sometido a este proceso, el alimento modifica muy rápidamente sus características físicas, químicas y nutricionales, destacando entre los cambios observables más apreciados el color dorado, la textura crujiente y el aumento de palatabilidad.

Sin embargo, durante el proceso, el aceite o grasa está sometido a la acción de tres variables que

contribuyen a disminuir su calidad y a modificar su estructura: la humedad, aportada por el alimento que origina la hidrólisis de la grasa, el aire que penetra en el aceite a través de la superficie y da lugar a la formación de compuestos de oxidación y la elevada temperatura a la que el proceso tiene lugar cuya consecuencia es la alteración térmica.

Los principales compuestos nuevos originados se resumen en la tabla I, donde se observa que en el proceso se originan productos de degradación volátiles y no volátiles. La principal diferencia entre ambos grupos de compuestos radica en que los primeros, por su propia naturaleza, se eliminan en gran parte durante el proceso y su importancia está relacionada con las características organolépticas que

TABLA I
PRINCIPALES GRUPOS DE COMPUESTOS NUEVOS FORMADOS EN LOS ACEITES Y GRASAS DURANTE EL PROCESO DE FRITURA

<i>Alteración</i>	<i>Variable</i>	<i>Compuestos nuevos</i>	<i>Significación nutricional</i>
Oxidativa	Aire	Monómeros oxidados (TG) Dímeros y polímeros oxidados (TG) Compuestos volátiles (aldehídos, cetonas, hidrocarburos, etc.)	Compuestos que modifican las propiedades nutricionales
Térmica	Temperatura	Dímeros y polímeros no polares (TG) Monómeros cíclicos (TG) Isómeros trans (TG)	
Hidrolítica	Humedad	Ácidos grasos libres Diglicéridos Monoglicéridos	Compuestos que no modifican las propiedades nutricionales

determinan la aceptabilidad del producto frito, mientras que los componentes no volátiles son ingeridos con el alimento y tienen su mayor interés desde el punto de vista nutricional.

Es interesante comentar, como se indica en la última columna de la tabla, que la hidrólisis de la grasa da lugar a la escisión del enlace éster del triglicérido con formación de diglicéridos y ácidos grasos libres, compuestos intermedios en el metabolismo de las grasas antes de que se produzca su absorción y que, por tanto, influyen en la calidad de la grasa pero no modifican su valor nutricional. Sin embargo, la acción del aire y la temperatura origina cambios en los ácidos grasos constituyentes de los triglicéridos (TG) modificando su valor nutricional.

El nivel de degradación de los aceites y grasas de fritura, por otra parte, puede ser muy variable, dependiendo, entre otros factores, de la composición del alimento, de la mayor o menor absorción de aire durante el proceso, de la temperatura utilizada, del tiempo de uso de la grasa o aceite y de su composición y calidad inicial (Dobarganes y Pérez Camino, 1991). Por tanto, la evaluación de la calidad de los aceites de fritura es muy necesaria, especialmente atendiendo a dos circunstancias que han contribuido a modificar la cantidad y calidad de los aceites y grasas de fritura.

1. El incremento exponencial en el consumo de grasas destinada a la preparación industrial de alimentos de consumo inmediato y a la fabricación de una amplia gama de productos que son comercializados congelados y prefritos.

2. El cambio en la forma clásica de realizar el proceso discontinuo de fritura. La clásica sartén, donde se calienta una cantidad limitada de aceite que se consume en su mayoría por el alimento y garantiza una elevada reposición con aceite fresco en la siguiente operación de fritura, ha sido sustituida por la freidora en la que se da una situación opuesta, ya que se calienta un gran volumen de aceite con relación al producto y, por tanto, el aceite puede ser reutilizado un elevado número de veces con una mí-

nima adición de aceite fresco. En estas condiciones, la degradación del aceite o grasa de fritura es muy difícil de controlar y es posible alcanzar niveles de alteración elevados.

Ambas circunstancias explican la preocupación del consumidor por conocer el estado de las grasas que ingiere y por obtener información sobre los mejores aceites y grasas a utilizar en el proceso y su tiempo de uso. Por otra parte, también justifican los esfuerzos realizados desde las Administraciones Públicas para establecer recomendaciones y normas que limiten la degradación de los aceites y grasas de fritura para consumo humano (Dobarganes y cols., 1989).

En resumen, al igual que en otros muchos productos y procesos, el objetivo fundamental del control es garantizar la calidad del producto frito que va a ser ingerido. La principal diferencia con otros procesos de preparación de alimentos es la doble función del aceite como un medio de transferencia de calor sometido a cambios físicos y químicos, por una parte, y su incorporación al producto en una cantidad significativa para modificar las características sensoriales y nutricionales del alimento.

Se ha comentado en múltiples ocasiones la incoherencia de desarrollar todos los esfuerzos en el control de calidad de los aceites y grasas de fritura en lugar de controlar los productos fritos, que son lo que contienen específicamente la grasa o aceite que va a ser ingerido. Sin olvidar que una evaluación de la calidad total incluye a las diferentes etapas –materias primas, proceso y producto terminado– es normal que, en el proceso de fritura, el énfasis se ponga en el aceite de la freidora por ser el único proceso en el que una de las materias primas –el aceite o grasa– está en constante cambio y su calidad en un momento dado es determinante de la calidad y aceptabilidad del producto frito final. Cualquier norma o regulación limitando la alteración del aceite o grasa de fritura implica directamente una limitación de la alteración en la grasa de fritura absorbida en el producto frito.

En esta revisión se detallan los principales métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los

aceites y grasas de fritura y su selección dependiendo de las posibilidades y necesidades de los principales usuarios de freidoras.

PROBLEMAS PRINCIPALES EN LA EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE LOS ACEITES Y GRASAS DE FRITURA

Necesidades específicas de control para los procesos continuo y discontinuo

La diferencia fundamental, desde el punto de vista de la necesidad del control de calidad, se establece entre freidoras continuas cuyo objetivo es la preparación de productos para ser conservados durante un cierto periodo de tiempo, y freidoras discontinuas destinadas a la preparación de productos para consumo inmediato y, por tanto, localizadas en los lugares donde se demandan los productos fritos.

En el proceso de fritura continuo, existe la posibilidad de garantizar la presencia constante del alimento en la freidora lo que implica, a su vez, un continuo aporte de aceite fresco para compensar el que se absorbe en el producto. En estas condiciones la superficie del aceite esta protegida frente a la entrada de aire, y no sólo la degradación originada por las condiciones drásticas del proceso es baja, sino que además se compensa, en parte, por la adición de aceite no alterado, hasta llegar a un equilibrio a largo plazo que depende del equipo, de las condiciones del proceso y de la grasa absorbida por el alimento (Pérez-Camino y cols., 1988; Banks, 1996). El principal objetivo del control de calidad es, por tanto, conseguir un equilibrio compatible con un producto frito de elevada calidad y con las especificaciones requeridas en las normativas vigentes. Una vez conseguido, no son de esperar variaciones significativas y el control de calidad periódico resulta sencillo.

Por el contrario el proceso de fritura discontinuo, se caracteriza por la producción de alimentos a demanda de los consumidores, lo que implica la existencia de periodos en los que el aceite de fritura se encuentra a elevada temperatura sin alimento y la existencia de ciclos de calentamiento-enfriamiento en los que es inevitable la acción del aire. En estas condiciones, en que la alteración oxidativa se desarrolla con facilidad y existe una baja reposición con aceite fresco, la alteración aumenta hasta que la grasa o aceite tiene que ser reemplazado y, en consecuencia, un control adecuado es muy necesario para garantizar la calidad y salubridad de los aceites y grasas de fritura absorbidos en los alimentos (Stevenson y cols., 1984).

Necesidades específicas de control para distintos usuarios de freidoras

El aspecto más específico del proceso de fritura respecto a otros tipos de procesos de preparación

de alimentos, es la existencia de una amplia variedad de freidoras y usuarios, con características muy diversas:

1. *Freidoras domésticas.* En ellas se realizan frecuentemente operaciones de fritura en recipientes desde 1 a 5 L. Se dispone de una única freidora para la preparación de distintos alimentos, se utilizan aceites de estabilidad limitada y el usuario dispone exclusivamente de criterios subjetivos –presencia de humo o espuma, olor o color rechazable, etc.– para evaluar la calidad del aceite y para decidir el momento en que debe ser reemplazado.

2. *Freidoras del sector de restauración.* Constituye el sector más heterogéneo e incluye cadenas de preparación de alimentos rápidos; cocinas colectivas de colegios, hospitales, etc.; restaurantes; puestos de ventas ambulantes y freidurías de distintos productos. Se utilizan aceites o grasas de variada estabilidad en freidoras discontinuas de 3 a 50 L de capacidad destinadas a la preparación de uno o más productos. Las posibilidades analíticas para una evaluación adecuada de la calidad de los aceites y grasas son muy limitadas usándose también, en la mayor parte de los casos, criterios subjetivos.

3. *Freidoras industriales.* Normalmente contienen un volumen de 400 a 2.000 L de grasa de elevada estabilidad y se destinan a la preparación de un único alimento en continuo. En este sector no existen problemas para la aplicación de métodos analíticos adecuados para la evaluación de la calidad de las grasas de fritura y del producto por disponer de laboratorios de control. La selección de los métodos analíticos depende del tipo de producto aunque, en general, se utilizan índices como el color o la acidez libre que se han relacionado empíricamente con la calidad del producto.

En resumen, respecto al control de calidad, se produce una situación paradójica ya que las necesidades de control de la calidad de los aceites y grasas son mucho mayores en los sectores caracterizados por el uso de freidoras discontinuas pequeñas y medianas en los que es impensable la aplicación de cualquier técnica que requiera material de laboratorio. Por el contrario, como se ha comentado previamente, en la fritura en continuo, el nivel de degradación tiende a estabilizarse proporcionando un producto de calidad constante sin que sea imprescindible un control estricto de la calidad del aceite o grasa de fritura una vez que el proceso está bien controlado.

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE LOS ACEITES Y GRASAS DE FRITURA

Calidad inicial de los aceites y grasas de fritura

En general, la selección del aceite y grasa de fritura está muy determinada por su precio y disponibilidad, así como por sus características funcionales. Una amplia variedad de aceites y grasas refinados es utilizada para el proceso incluyendo desde los acei-

tes hidrogenados, de elevada estabilidad y punto de fusión, hasta aceites vegetales mono y poliinsaturados, más valorados por el consumidor por sus propiedades nutricionales (Stevenson, 1984; Orthoefer and Cooper, 1996^a, Brinkman, 2000). El uso de mezclas de aceites es también una posibilidad real para conseguir una mayor flexibilidad en la disponibilidad de los mismos.

Sin embargo, independientemente del aceite o grasa usado en el proceso, su calidad inicial puede tener una gran influencia en la calidad del producto frito y en la estabilidad del aceite a elevada temperatura. Por ello, el control de la calidad inicial de los aceites es esencial y puede ser llevado a cabo mediante índices analíticos clásicos en la evaluación de la calidad de aceites refinados que suponen una realización adecuada de las diferentes etapas del proceso de refinación. En la tabla II se resumen las especificaciones más típicas requeridas para las grasas utilizadas en fritura industrial que, como se observa, garantizan una buena neutralización, decoloración y desodorización de los aceites y grasas a través de las especificaciones de ácidos grasos libres, color y olor, respectivamente. Adicionalmente, la medida del índice de peróxidos indicaría que la grasa ha sido refinada recientemente, lo que unido a su estabilidad frente a la oxidación da idea de su resistencia inicial a la acción del aire. Finalmente, un punto de humo elevado es importante para garantizar la ausencia de problemas de fabricación a la elevada temperatura del proceso requerido para la preparación del producto frito. No obstante, las especificaciones concretas para cada proceso y aceite se fijan, en general, entre comprador y vendedor y tienen una amplia variabilidad incluyendo la composición en ácidos grasos o el índice de yodo de la grasa o aceite y, en ocasiones, especificaciones de aditivos –antioxidantes y/o dimetilpolisiloxano- y un valor máximo para la determinación de compuestos polares.

Métodos analíticos para determinar la calidad de los aceites y grasas usados en fritura

Las reacciones implicadas en el proceso de fritura originan una serie de cambios físicos y químicos en

TABLA II
ESPECIFICACIONES DE CALIDAD INICIAL PARA GRASAS DE FRITURA

Color	Amarillo claro
Olor y sabor	Ninguno
Ácidos grasos libres	Máximo 0,1%
Índice de peróxidos	Máximo 2 meq/kg
Estabilidad (100° C)	Mínimo 60 horas
Punto de humo	Mínimo 200° C

la grasa o aceite de fritura, algunos fácilmente observables, entre los que destacan:

—Cambios en las características organolépticas con el desarrollo de olores y sabores típicos, relacionados con los componentes volátiles.

—Incremento de la viscosidad y densidad como consecuencia de las reacciones de polimerización.

—Oscurecimiento atribuido a la formación de compuestos carbonílicos insaturados o a la solubilización de componentes polares del alimento.

—Formación de espuma relacionada con la formación de polímeros y sustancias anfífilas procedentes del alimento.

—Disminución del punto de humo debido a la eliminación de compuestos volátiles y ácidos grasos libres producidos por hidrólisis.

—Incremento de la absorción en la región ultravioleta, consecuencia de la formación de dobles enlaces conjugados.

—Cambios en la composición en ácidos grasos, caracterizada por el aumento de los ácidos saturados.

—Aumento de la acidez debido a las reacciones hidrolíticas.

La amplia variedad de cambios tiene como consecuencia la existencia de un gran número de posibilidades analíticas para la evaluación de la calidad de las grasas y aceites de fritura que se pueden clasificar en dos grandes grupos: las técnicas que evalúan los cambios más notables por medio de índices clásicos en el análisis de grasas y los métodos que dan información sobre la cantidad de todos o parte de los compuestos nuevos formados (Stevenson, 1984; Gutiérrez y Dobarganes, 1988; White, 1991; Orthoefer and Cooper, 1996b). Las tablas III y IV resumen los métodos analíticos más utilizados y las referencias bibliográficas más reconocidas. En el caso de los métodos estandarizados más comunes, se ha incluido la norma española (AENOR, 1991), aunque existen normas similares propuestas por distintas organizaciones (IUPAC, 1992; AOCS, 1994).

Métodos analíticos clásicos

Los índices analíticos incluidos en la tabla III han sido utilizados con exclusividad hasta la década de los 80 para la evaluación de la calidad de las grasas de fritura. Su utilidad, sin embargo, está limitada por alguno de los siguientes inconvenientes:

—La necesidad de utilizar como referencia el valor del índice de la grasa o aceite inicial. Ejemplos típicos son la viscosidad, absorción UV, la constante dieléctrica o el índice de yodo cuyo valor en los aceites y grasas es muy variable y sólo su cambio respecto al valor inicial está relacionado con la alteración.

—La evaluación de un aspecto parcial de la compleja degradación producida. El índice de acidez y la viscosidad son el más representativo entre los inclui-

TABLA III
ÍNDICES ANALÍTICOS DE APLICACIÓN A LA EVALUACIÓN DE LA CALIDAD
DE LOS ACEITES Y GRASAS DE FRITURA

<i>Método analítico</i>	<i>Compuestos relacionados</i>	<i>Referencia</i>
Índice de acidez	Ácidos grasos libres	Norma UNE 55011
Índice de yodo	Polímeros	Norma UNE 55013
Adsorción en la región ultravioleta	Dobles enlaces conjugados	Norma UNE 55046
Constante dieléctrica	Compuestos polares	Graziano, 1979
Viscosidad	Polímeros	Suys, 1991
Punto de humo	Compuestos volátiles	AOCS Cc 9a-48
Evaluación sensorial	Compuestos volátiles	Melton, 1996
Ensayos colorimétricos	Compuestos de oxidación	Meyer, 1977
Espumación	Compuestos anfífilicos	Perrin et al, 1981
Color	Compuestos carbonílicos insaturados	AOCS Cc13c-50

dos en la tabla por su relación exclusiva con los compuestos de hidrólisis y los polímeros, respectivamente.

—La evaluación de aspectos más dependientes de la composición del alimento que de la degradación que ha tenido lugar en el proceso de fritura. Esta limitación afecta al color, espumación y características organolépticas.

Sin embargo, debido a sus grandes ventajas —rapidez, sencillez, reproducibilidad y bajo coste de reactivos y material— son muy utilizados en la evaluación de la calidad cuando se dispone del aceite inicial o se ha establecido previamente su relación con la calidad del producto. Así, por ejemplo, la determinación de la acidez libre es la técnica más ampliamente usada en las industrias que usan el proceso continuo y es de gran utilidad porque, debido a las características constantes de la fritura, permite predecir la degradación del aceite y la calidad del producto obtenido.

En el sector de freidoras discontinuas, los procedimientos más utilizados para controlar la calidad dependen, principalmente, de la experiencia y habilidad del usuario de la freidora por estar basados en los cambios observables (Stevenson, 1984). No obstante, merecen especial mención los métodos rápidos especialmente desarrollados para ser utilizados *in situ* como un medio rápido de conocer el estado de degradación de los aceites de fritura:

—*Cambios en la constante dieléctrica: Food oil sensor (FOS)*

Es un pequeño instrumento portátil comercializado por Northern Instruments Corp., que mide el cambio en la constante dieléctrica del medio de fritura por comparación con la del aceite inicial (Graziano, 1979). El instrumento se calibra con el aceite inicial y se realiza, posteriormente, la lectura de la muestra obteniéndose un valor en una escala de 6

puntos. Una lectura de 4 o superior indicaría que el aceite o grasa debe ser desechado.

—*Cambios en la viscosidad: VISCOFRIT*

Es un instrumento muy simple, mezcla de embudo y cucharón de acero inoxidable, que evalúa el aumento de la viscosidad del aceite mediante lectura del tiempo de vaciado a través de un orificio situado en la parte inferior. La utilización repetida del aceite en fritura origina un aumento de su viscosidad y, en consecuencia, del tiempo de vaciado. El instrumento está dotado de un termómetro en el que se define, para temperaturas comprendidas entre 15 y 50° C, el tiempo de vaciado máximo a partir del cual el aceite se debe reemplazar (Castellón, 1998).

—*Métodos colorimétricos*

- *Oxifrit-test*. Se trata de una prueba sencilla, comercializada por Merck S.A., basada en la mezcla de dos reactivos cuya acción depende de la cantidad de ácidos oxidados en el aceite de fritura (Meyer, 1979). Adicionada una pequeña cantidad de aceite a la mezcla de reactivos el color de la mezcla se compara con una escala de color de cuatro puntos, de azul a verde oliva, que indica directamente la calidad del aceite de fritura y, en su caso, la necesidad de reemplazarlo.

- *Fritest*. La prueba, también comercializada por Merck S.A., está basada en la reacción de compuestos carbonílicos presentes con reactivos específicos (Zeddelmann, 1973). El color de la mezcla de muestra y reactivos se compara con una escala de color de tres puntos, de amarillo a naranja, que indica la calidad de la muestra y la necesidad o no de desecharlo.

- *Veri-fry*. La prueba comercializada por Libra Laboratory Inc., consiste en un simple tubo que contiene un indicador de oxidación-reducción al que se añade una pequeña cantidad de aceite de fritura hasta la marca indicada en el mismo (Litovsky y cols.,

1991). El color obtenido se compara con una escala de color de cinco puntos, de azul a verde, relacionada con la calidad.

Todos estas prueba son rápidas, seguras y sencillas de realizar por el personal que utiliza las freidoras. Aunque presentan en ocasiones resultados dudosos, su utilización, en la actualidad muy minoritaria, contribuiría a mejorar la calidad de los aceites y grasas de fritura utilizados en el sector de restauración (Dobarganes y Márquez-Ruiz, 1995). Por otra parte, las pruebas basadas en medidas físicas (constante dieléctrica y viscosidad) tienen el valor añadido de no requerir reactivos y, consecuentemente, puede utilizarse cuantas veces se desee sin coste adicional una vez adquirido el sistema.

Métodos analíticos basados en la determinación cuantitativa de compuestos de degradación

La determinación cuantitativa de los compuestos nuevos formados en el proceso de fritura tiene la ventaja de eliminar los principales inconvenientes de los métodos clásicos y facilitar la evaluación de cualquier muestra de origen desconocido. En contraposición, requieren personal especializado para su realización y, en algunos casos, equipos cromatográficos.

Aunque existe una amplia gama de compuestos que han sido objeto de métodos analíticos específicos (Gutiérrez y Dobarganes, 1988; Dobarganes y cols., 1999, Le Quére and Sebedio, 1996), en la tabla IV se han seleccionado los de mayor interés dirigidos a conocer los principales grupos de compuestos formados más que a cuantificar compuestos específicos.

En general, puede observarse que todas las técnicas están basadas en la cromatografía de adsorción y de exclusión por tamaño molecular. El hecho es debido a que, prácticamente, todos los compuestos originados durante el proceso de fritura se diferencian de los componentes mayoritarios de la grasa o aceite inicial –triglicéridos– en alguna de las dos propiedades que constituyen el fundamento de las técnicas

aplicadas: la polaridad en la cromatografía de adsorción y el tamaño molecular, directamente relacionado con el peso molecular, en la cromatografía de exclusión.

Entre todos los métodos, destaca la extendida aplicación de la determinación de compuestos polares, que está incluido en la mayor parte de las regulaciones y recomendaciones existentes en distintos países como base para establecer la calidad y que, además, no necesita equipos instrumentales para su desarrollo (Gertz, 1979; Guhr and Waibel, 1979; IUPAC, 1993). La técnica utiliza es la cromatografía de adsorción en columna clásica de sílice para separar una muestra de 1 g de aceite o grasa de fritura en dos fracciones eluidas con disolventes de polaridad creciente. En una primera fracción, eluida con éter de petróleo - éter etílico 87-13, se obtienen todos los triglicéridos que permanecen sin alterar y en una segunda fracción eluida con éter etílico, se obtienen los compuestos de mayor polaridad. A partir de la determinación gravimétrica de la fracción polar se deduce fácilmente el porcentaje de muestra inicial que constituyen los compuestos polares, considerando una medida directa de la alteración de la grasa o aceite de fritura. La determinación es exacta, reproducible, no necesita equipos de difícil manejo y, además, puede comprobarse fácilmente la eficacia de la separación mediante cromatografía en capa fina. Su principal inconveniente es el tiempo necesario para su realización y el coste medio de disolventes y sílice. Utilizando el método de extracción en fase sólida con cartuchos de sílice, la técnica ha sido adaptada a muestras del orden de miligramos. En este caso, la cuantificación de compuestos polares se realiza mediante patrón interno, eliminándose los inconvenientes citados y aumentando la reproducibilidad de las muestras con bajo contenido en compuestos polares (Márquez-Ruiz y cols., 1996).

El segundo método de importancia es la determinación de polímeros. Los polímeros de triglicéridos son, en general, los compuestos mayoritarios formados en la fritura debido a la elevada temperatura del proceso y su principal diferencia con los triglicéridos no alterados es su mayor peso molecular –doble para los dímeros,

TABLA IV
MÉTODOS ANALÍTICOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LOS COMPUESTOS NUEVOS EN LOS ACEITES Y GRASAS DE FRITURA

<i>Determinación analítica</i>	<i>Técnica utilizada</i>	<i>Referencia</i>
Compuestos polares	Adsorción en columna de sílice Extracción en fase sólida	Gertz, 1977 Guhr y Waibel, 1977 Márquez-Ruiz et al., 1996
Polímeros	Cromatografía de exclusión	Wolf et al., 1991
Distribución de compuestos polares	Cromatografías de adsorción y exclusión	Dobarganes et al., 1988
Ácidos grasos polares	Adsorción en columna de sílice	Dobarganes et al., 1984 Perrin et al., 1985
Distribución de ácidos grasos polares	Cromatografías de adsorción y exclusión	Márquez-Ruiz et al., 1990

triple para los trímeros, etc.–. La determinación cuantitativa mediante cromatografía de exclusión puede realizarse en sólo 15 minutos sin más que diluir la muestra de aceite o grasa en tetrahidrofurano (50 mg/mL) e inyectar la muestra en un cromatógrafo líquido provisto de la columna adecuada (Wolf y cols., 1991; IU-PAC, 1993). En contraposición a la determinación de compuestos polares, el método es muy rápido, proporciona información sólo sobre un grupo de compuestos y es necesario disponer de un cromatógrafo líquido. La determinación es de un gran interés, sin embargo, como un complemento a la determinación de compuestos polares.

La combinación de ambas técnicas permite obtener la mayor información sobre la degradación de los aceites y grasas de fritura, como se observa en la figura 1 donde se resume la metodología propuesta para cuantificar los compuestos polares y su distribución en los principales grupos de compuestos presentes. En este esquema, una vez obtenidos los compuestos polares mediante cromatografía de adsorción, se aplica la cromatografía de exclusión a la fracción polar para obtener un cromatograma que permite diferenciar los compuestos obtenidos por acción de las tres principales variables. Por una parte, eluyen los compuestos de polimerización (PTG + DTG), principalmente relacionados con la acción de la temperatura. En segundo lugar, se cuantifican también los triglicéridos monómeros oxidados (TGO), consecuencia de la acción del oxígeno atmosférico, aprovechando que los triglicéridos no alterados que tienen similar peso molecular, han sido eliminados en la fracción no polar en la primera etapa. Finalmente, se determinan los compuestos originados por hidrólisis –diglicéridos (DG) y ácidos grasos (AG). La principal ventaja de esta combinación de métodos es que se elimina la mayor parte de la muestra en la primera fase, aumentando enormemente la concentración de todos los grupos de compuestos polares. Ello

implica que la metodología puede aplicarse también a muestras de muy baja concentración de compuestos polares y, lo que es más importante, permite distinguir dentro de los compuestos polares los dos grupos que se definen en la última columna de la tabla I: aquéllos que contribuyen a modificar las propiedades nutricionales por contener ácidos grasos alterados y aquéllos que son productos intermediarios en el metabolismo de los aceites y grasas (Dobarganes y cols., 1988; Marquez-Ruiz y cols., 1996).

Los métodos descritos parten directamente de la grasa o aceite y, por tanto, la alteración se analiza sobre los triglicéridos. El resto de las determinaciones y técnicas incluidas en la tabla están basadas en los mismos principios aunque parten de los derivados más simples –los ésteres metílicos de los ácidos grasos– lo que permite diferenciar los ácidos grasos que se encuentran degradados de los que continúan inalterados dentro de las moléculas de triglicéridos. Como se ha comentado, los ácidos grasos alterados son los que modifican las propiedades nutricionales de las grasas y, por ello una medida directa de los ácidos grasos que han sufrido alteración térmica u oxidativa, tiene un interés añadido. Este es el principal objetivo de la determinación de ácidos polares y de su distribución en monómeros oxidados, dímeros y polímeros.

La determinación de compuestos polares y la determinación de polímeros son los dos métodos más utilizados por los Servicios de Inspección de Alimentos en distintos países para el análisis de los aceites y grasas de fritura o de la incorporada al alimento frito o prefrito comercializado. La preferencia por uno u otro está en función de los métodos recomendados o exigidos en las normas de calidad vigentes. Su objetivo es garantizar la calidad y salubridad de los alimentos y de los productos fritos y, por tal razón, no deben escatimar esfuerzos en la aplicación de las técnicas más modernas.

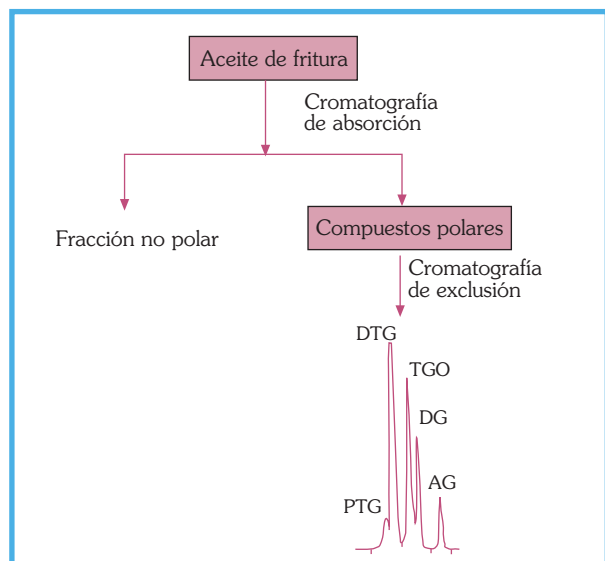


Fig. 1. Procedimiento analítico para la determinación de compuestos polares y su distribución en polímeros de triglicéridos (PTG), dímeros de triglicéridos (DTG), triglicéridos oxidados (TGO), diglicéridos (DG) y ácidos grasos (AG).

LA CALIDAD DE LOS ACEITES Y GRASAS DE FRITURA Y SU ADAPTACIÓN A LAS NORMAS DE CALIDAD VIGENTES

Un aspecto complementario de interés es conocer la información existente sobre la calidad de los aceites y grasas de fritura, en relación con las normativas vigentes en diferentes países que limitan la degradación de las grasas para consumo humano. El estado actual de las regulaciones en los distintos países, recogiendo tanto las normas oficiales como las recomendaciones ha sido revisado recientemente (Firestone, 1996), resumiéndose en la tabla V, los límites de mayor interés, por su relación con los compuestos nuevos formados, incluidos en las legislaciones europeas de obligado cumplimiento para el sector. Hasta el momento, no existe, sin embargo, ninguna normativa comunitaria limitando la degradación de los aceites y grasas de fritura. Como puede observarse, el método de mayor aceptación es la determinación de compuestos polares, limitados en todos los países, excepto Holanda, en valores próximos al 25%.

TABLA V
LIMITACIONES ESTABLECIDAS EN NORMAS OFICIALES DE CALIDAD DE LOS ACEITES Y GRASAS DE FRITURA EN PAÍSES EUROPEOS

	<i>Compuestos polares (%)</i>	<i>Polímeros (%)</i>	<i>Ácidos grasos libres (%)</i>
Alemania	24	-	2,0
Austria	27	-	2
Bélgica	25	10	2,5
España	25	-	-
Francia	25	-	-
Holanda	-	16	-
Italia	25	-	4,5

Sin embargo, como se ha comentado en apartados anteriores, la dificultad de control directo en la mayor parte de los establecimientos de freiduría y la complejidad del propio proceso de fritura, han tenido como consecuencia un bajo nivel de cumplimiento de la norma de calidad como se observa en la tabla VI, donde se resumen los resultados analíticos obtenidos en nuestro laboratorio para un elevado número de muestras de muy distinto origen. Las muestras pertenecen a los tres segmentos más característicos que utilizan el proceso de fritura: fritura doméstica, sector de restauración y fritura industrial en continuo.

Las muestras procedentes de freidoras continuas fueron suministradas por industrias destinadas a la producción de patatas chips, alimentos prefritos congelados y donuts. En este sector, sólo un mínimo porcentaje de muestras sobrepasó el 25% de compuestos polares establecido en la norma de calidad española y, por otra parte, el máximo nivel encontrado (27,3%) está muy próximo al límite, lo que indica que el nivel de calidad de los productos fritos y prefritos es, cuando menos, aceptable.

En contraste, el nivel de degradación de los aceites y grasas procedentes de freidoras discontinuas es muy elevado en un significativo número de muestras, particularmente las procedentes del sector de restauración (Dobarganes y Márquez-Ruiz, 1998). Las muestras procedentes de freidoras domésticas corresponden al momento en que se desechan, mientras que las muestras procedentes del sector de restauración fueron recogidas por los Servicios de Inspección de Alimentos cuando el aceite o grasa estaba en uso. Ello implica que, en el último caso, el elevado porcentaje de muestras que superan los lími-

tes establecidos en la norma de calidad sería incluso mayor si las muestras hubieran sido tomadas cuando el aceite o grasa es reemplazado.

Una situación similar se encuentra en otros países como se detalla en la tabla VII, donde se recogen resultados de muestras recogidas en el sector de restauración.

A la vista de estos resultados, es evidente la necesidad de dar soluciones que contribuyan a mejorar la calidad de los aceites y grasas de fritura en este sector, única forma de producir alimentos más nutritivos.

RECOMENDACIONES Y PERSPECTIVAS

En resumen, el principal problema en el control de calidad de los aceites y grasas de fritura se encuentra en el sector de preparación de alimentos de consumo inmediato –restaurantes, minoristas de preparación de churros y patatas, puestos de fritura ambulantes, etc. En este sector, las regulaciones vigentes, aun siendo necesarias, no serán útiles mientras el usuario de la freidora no disponga de medios para saber si el aceite o grasa, que se modifica continuamente, cumple los límites analíticos establecidos en las normas. Los resultados de la evaluación de la calidad de las grasas de fritura en distintos países demuestra que es necesario desarrollar un mayor esfuerzo en la aplicación de métodos simples que puedan ser desarrollados *in situ* y que contribuyan a mejorar la calidad actual de los aceites y grasas de fritura.

Mientras ello ocurre, las principales recomendaciones en ausencia de métodos analíticos se resumen en los siguientes aspectos:

—Utilizar aceites de estabilidad elevada con alto contenido en ácidos grasos monoinsaturados, líquidos a temperatura ambiente.

—Mantener el aceite sin alimento el menor tiempo posible y mantener el aceite en la oscuridad o la freidora cerrada cuando no se está utilizando.

—Realizar un filtrado frecuente para eliminar partículas sólidas que contribuyen a aumentar la degradación del aceite de fritura.

—Efectuar reposiciones frecuentes con aceite nuevo para mantener la cantidad de aceite en un volumen próximo al inicial, ya que un aumento de la superficie con relación al volumen aumenta enormemente la oxidación cuando el alimento no está presente.

TABLA VI
NIVELES DE COMPUESTOS POLARES (CP) ENCONTRADOS EN ACEITES Y GRASAS DE FRITURAS PROCEDENTES DE DISTINTOS SECTORES

	<i>Freidoras discontinuas</i>		<i>Freidoras continuas</i>
	<i>Domésticas</i>	<i>Sector de Restauración</i>	
Número de muestras	72	190	82
Rango de CP (%)	10,5 - 42,1	3,1 - 61,4	4,2 - 27,3
Número de muestras con CP > 25%	24	69	3

TABLA VII

NIVELES DE COMPUESTOS POLARES (CP) Y POLÍMEROS EN ACEITES Y GRASAS DE FRITURA PROCEDENTES DEL SECTOR DE RESTAURACIÓN DE DISTINTOS PAÍSES

Referencia	Número de muestras	Rango de CP (%)	Rango de polímeros (%)	Número de muestras (CP > 25%)	% de muestras (CP > 25%)
Croon et al. (1986)	100	1 - 55	-	38	38,0
Gertz (1986)	125	5,8 - 57,7	1,7 - 35,0	44	35,2
Sebedio et al. (1987)	31	8,2 - 54,6	0,8 - 39,5	15	48,4
Dobarganes y Márquez (1995a)	174	3,1 - 61,4	0,2 - 47,6	60	34,5
Skrökki (1995)	20	7,7 - 55,8	-	12	60,0

—Desechar el aceite cuando se observe formación de espuma o cambio en la viscosidad, ambos consecuencia de un aumento significativo de la cantidad de compuestos de polimerización; o un color muy pronunciado, consecuencia de compuestos de oxidación secundarios en cantidades detectables; o una disminución significativa del punto de humo a la temperatura usual de fritura, consecuencia de un aumento claro en los ácidos grasos libres originados por hidrólisis; o un olor desagradable, consecuencia de la formación acelerada de compuestos de oxidación volátiles. La experiencia demuestra que cualquiera que sea el criterio subjetivo utilizado, el usuario de la freidora desecha el aceite con una degradación similar. Sería, por ello, estimable una mutua confianza de usuarios y Administración que permitiera, a petición de los usuarios, obtener información sobre el nivel de degradación de sus grasas en el momento en que se desechan para ir acercando el nivel de degradación real al establecido en las normas vigentes.

—Continuar o iniciar campañas de información en el sector de restauración, por parte de la Administración, para aumentar el conocimiento sobre el proceso, efectuar muestreos para conocer la evolución de la calidad de los aceites y recomendar métodos simples cuando puedan ser adecuados para disminuir la degradación.

Finalmente, las principales perspectivas en el área de los aceites y grasas de fritura están relacionadas con las actuales demandas de los consumidores que se resumen en una elevada valoración de los productos preparados o semipreparados, y en su disposición a seguir las recomendaciones establecidas para una dieta sana: disminución en el consumo de grasa total, grasa saturada, colesterol y compuestos modificados que contribuyan a disminuir el valor nutritivo de la grasa o aceite.

En consonancia con estos intereses, es fácil detectar tres aspectos de interés donde el control de calidad deviene necesario.

—Continuo desplazamiento de los aceites hidrogenados por los aceites vegetales ricos en ácidos grasos monoinsaturados. En este sentido, el campo abierto de los aceites de semillas con composición modificada en ácidos grasos, desde hace años en el mercado, ofrece las mejores perspectivas para la sustitución de los aceites hidrogenados cuestionados

por su elevado contenido en isómeros trans. Los aceites, no obstante, podrían ser menos estables y su sustitución plantea problemas específicos de control en las primeras etapas de implantación.

—Incremento exponencial en la preparación industrial de alimentos prefritos que, normalmente, son sometidos a una segunda operación de fritura doméstica o en el sector de restauración. La importancia de estos productos, desde el punto de vista del control de calidad, radica en que se modifica el concepto de grasa invisible y, sobre todo, que su composición tiene todos los inconvenientes de un aceite o grasa de fritura —alteración desconocida y variable. Por otra parte, el aceite o grasa constituyente se encuentra sólo en las capas externas del producto intercambiándose con el aceite de fritura y modificando sin control la degradación y composición en ácidos grasos del aceite de la freidora y, en consecuencia, la composición de los productos fritos en un momento dado y en posteriores operaciones de fritura (Pérez-Camino y cols., 1991; Pozo y cols., 1995). Es importante, por ello, una clara regulación de las especificaciones de estos productos.

—Desarrollo de productos fritos elaborados con compuestos grasos de baja o nula digestibilidad, como un medio de disminuir la ingesta de grasas (Haumann, 1986; Harrigan and Breene, 1989). La aprobación de los poliésteres de sacarosa para la preparación de productos de aperitivo, de extendido consumo y baja participación en la dieta, y su comercialización en EE.UU. hace prever su aparición en el mercado mundial en breve plazo. Estos productos, no hidrolizados por la lipasa pancreática y, por ello, no absorbibles, permiten disfrutar de las características sensoriales de gusto y textura de los productos fritos con un bajo aporte de calorías, aunque plantean problemas añadidos de control de calidad dada la estructura de los compuestos (Ríos y cols., 1994; Márquez-Ruiz y cols., 1994).

AGRADECIMIENTO

Al Ministerio de Ciencia y Tecnología por la financiación aportada (Proyecto AGL 2001-0505) ¹

BIBLIOGRAFÍA

1. AENOR. Asociación Española de Normalización. Catálogo de Normas UNE. Madrid, 1991.
2. AOCS. "Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society", 4th ed.- AOCS, Champaign, 1994.
3. Banks D. Industrial frying. In: Perkins EG, Erickson MD. Deep Frying: Chemistry, Nutrition and practical applications. Illinois: AOCS Press, Champaign, 1996; 12: 258-70
4. Brickmann B. Quality criteria of industrial oils and fats. Eur J Lipid Sci Technol 2000; 102: 539-41.
5. Castellón Arnau A. Patente ES 1 043 160U . Dispositivo medidor de la alteración de aceites comestibles recalentados, 1999.
6. Croon LB, Rogstad A, Leth T, Kiutamo T. A comparative study of analytical methods for quality evaluation of frying fat. Fette Seifen Anstrichm 1986; 88: 87-91.
7. Dobarganes MC, Pérez-Camino MC, Gutiérrez González-Quijano R. Métodos analíticos de aplicación en grasas calentadas. I. Determinación de ésteres metílicos no alterados. Grasas y Aceites 1984; 35: 172-7.
8. Dobarganes MC, Pérez-Camino MC, Márquez-Ruiz G. High-performance size-exclusion chromatography of polar compounds in heated and non-heated fats. Fat Sci Technol 1988; 90: 308-11.
9. Dobarganes MC, Pérez-Camino M C, Márquez-Ruiz G. Determinación de compuestos polares en aceites y grasas de fritura. Grasas y Aceites 1989; 40: 35-8.
10. Dobarganes MC, Pérez-Camino M C. Frying process: selection of fats and quality control. En: Proceedings of the International Meeting on Fats and Oils Technology. Campinas, Brazil 1991: 57-66.
11. Dobarganes MC, Márquez-Ruiz G. Calidad de las grasas de fritura en el sector de restauración de Andalucía. Grasas y Aceites. 1995a; 4: 115-20.
12. Dobarganes MC, Márquez-Ruiz G. Control de calidad de las grasas de fritura. Validez de los métodos de ensayos rápidos en sustitución de la determinación de compuestos polares. Grasas y Aceites 1995b; 46: 196-201.
13. Dobarganes MC, Márquez-Ruiz G. Regulation of used frying fats and validity of quick testes for discarding the fats. Grasas y Aceites. 1998; 49: 331-5.
14. Dobarganes MC, Márquez-Ruiz G, Berdeaux O, Velasco J. Determination of oxidation compounds and oligomers by chromatographic techniques. Lancaster: En: Boskou D, And Elmadafa I, Technomic Publishing CO, 1999; 6: 143-61.
15. Firestone D. Regulation of frying fats and oils in: Deep Frying: Chemistry, Nutrition and practical applications. Champaign, Illinois. Ed: Perkins EG, Erickson MD, AOCS Press, 1996; 19: 323-34.
16. Gertz Ch. Praktische Erfahrungen mit säulenchromatographischen Methoden zur Bestimmung der Verderbenheit bei Fritierfetten. Fette Seifen Anstrichm 1979; 81: 520-4.
17. Gertz Ch. Chromatographische Methoden bei der Untersuchung von Fritierfetten. Fette Seifen Anstrichm 1986; 88: 475-80.
18. Gertz Ch. Determination of polymerized triglycerides content in deep-frying fats and Oils. Eur J Lipid Sci Technol 2001; 103: 114-6.
19. Graziano VJ. Portable instrument rapidly measures quality of frying fat in food service operations. Food Technol 1979; 33 (9): 50-6.
20. Guhr G, Waibel J. Chromatographische Methoden zur Bestimmung der Verderbenheit von Fritierfetten. Fette Seifen Anstrichm 1979; 81: 511-9.
21. Gutiérrez R, Dobarganes MC. Analytical procedures for the evaluation of used frying fats. In: Frying of foods. Principles, Changes and New Approaches. Chichester: Ed. Varela G, Bender AE, Morton ID, Ellis Horwood, 1988; 10: 141-54.
22. Harrigan KA, Breene WM. Fat substitutes: Sucrose esters and Simplese. Cereal Foods World 1989; 34: 1-7.
23. Haumann BF. Getting the fat out. Researchers seek substitutes for full-fat fat. J Am Oil Chem Soc 1986; 63: 278-88.
24. IUPAC. "Standard methods for the analysis of oils fat and derivatives".- 1^a supplement to 7th edition. Oxford: Pergamon Press, 1992.
25. Le Quéré JL, Sebedio JL. Cyclic monomers of fatty acids. In: Perkins EG, Erickson MD. Deep Frying: Chemistry, Nutrition and practical applications. Champaign, Illinois: AOCS Press. 4: 49-88.
26. Litovisky J, Korbelak T, Blumenthal MM. Pruebas rápidas para obtener frituras de buena calidad. Alimentaria 1991; 225: 97-104.
27. Márquez-Ruiz G, Pérez-Camino MC, Dobarganes MC. Combination of adsorption and size-exclusion chromatography for the determination of fatty acid monomers, dimers and polymers. J Chromatogr 1990; 514: 37-44.
28. Márquez-Ruiz G, Ríos JJ, Pérez-Camino MC, Dobarganes MC. Characterization of sucrose polyesters/triaclyglycerols mixtures. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1994; 71 (9): 1017-20.
29. Márquez-Ruiz G, Martín-Polillo M, Dobarganes MC. Rapid, quantitative determination of polar compounds in fats and oils by solid-phase extraction and size-exclusion chromatography using monostearin as internal standard. J Chromatogr 1996; 749: 55-60.
30. Melton SL. Sensory evaluation of frying fats and deep-fried products. In: Perkins EG, Erickson MD. Deep Frying: Chemistry, Nutrition and practical applications. Illinois: AOCS Press, Champaign 18: 311-322
31. Meyer H. Eine neue und einfache Schnellmethode zur Erfassung des oxidativen Zersetzungsgrades thermisch belasteter Fette. Fette Seifen Anstrichm 1979; 81: 539-42.
32. Orthoefer FT, Cooper DS. Initial quality of frying oil. In: Deep Frying: Chemistry, Nutrition and practical applications. Perkins EG, Erickson MD. Illinois: AOCS Press, Champaign 1996a; 2: 29-42.
33. Orthoefer FT, Cooper DS. Evaluation of used frying oil. In: Deep Frying: Chemistry, Nutrition and practical applications. Ed. Perkins EG, Erickson MD, AOCS Press, Champaign, Illinois. 1996b; 16: 285-96.
34. Pérez-Camino MC, Guinda A, Márquez-Ruiz G, Dobarganes MC. Alteración de grasas usadas en fritura. II. Variables que influyen en el proceso en continuo y análisis real en freidoras industriales. Grasas y Aceites. 1988; 39: 39-43.
35. Pérez-Camino MC, Márquez-Ruiz G, Ruíz-Méndez MV, Dobarganes MC. Lipid changes during the frying of frozen pre-fried foods. Journal of Food Science 1991; 56: 1644-7.
36. Perrin JL, Perfetti P, Naudet M. Evaluation des huiles chauffées. Test de moussage at de résistance thermique. Rev Fr Corps Gras 1981; 28: 209-13.
37. Perrin JL, Perfetti P, Dimitriades C, Naudet M. Etude analytique approfondie d'huiles chauffées. Rev Fr Corps Gras 1985; 32: 151-8.
38. Pozo Diaz RM, Masoud Musa TA, Pérez-Camino MC, Dobarganes MC. Intercambio lipídico durante la fritura de patatas prefritas congeladas en aceite de girasol alto oleico. Grasas y Aceites 1995; 46: 85-91.
39. Ríos JJ, Pérez-Camino MC, Márquez-Ruiz G, Dobarganes MC. Isolation and characterization of sucrose polyesters. Journal of the American Oil Chemists' Society 1994; 71: 385-90.
40. Sebedio JL, Grandgirard A, Septier Ch, Prevost J. Etat d'altération de quelques huiles de friture prélevées en restauration. Rev Fr Corps Gras 1987; 34: 15-8.
41. Skrókki A. Test used for examining the quality of frying oils. Fat Sci Technol 1995; 97: 384-6.
42. Stevenson SG, Vaisey-Genser M, Eskin NAM. Quality control in the use of deep frying oils. J Am Oil Chem Soc 1984; 61: 1102-8.
43. Suys I. Contrôle de la qualité des graisses et huiles de friture: corrélation entre teneur en composés polaires et viscosité. Rev F Corps Gras 1991; 38: 219-24.
44. White PJ. Methods for measuring changes in deep-fat frying oils. Food Technol 1991; 45 (2): 75-80.
45. Wolf JP, Mordret FX, Dieffenbacher A. Determination of polymerized triglycerides in oils and fats by high performance liquid chromatography. Pure Appl Chem 1991; 63, 1163-71.
46. Zeddelmann HV Von. Probleme bei der beurteilung von ierfetten. D Lebensmittel-rundsch 1973; 69: 81-6.

Food safety and food quality. Obesity as a model

Thursday December 12- Saturday December 14, 2002

Preliminary Programme

Thursday, 12-12-02

Arrival of participants

Friday, 13-12-02

- 9.15-10.15 Introductory lectures:
Functional foods: general concepts (F. Bellisle)
Food safety assessment of novel foods in the EU (A. Palou)
- 10.45-12.15 Working session I: "Functional foods: analysis of emblematic examples"
• Plant sterol esters in margarine (G. Duchateau)
• Probiotics as immunomodulators in academic examination stress (A. Marcos)
• ν -3 enriched functional foods (J. Boza)
• Transgenic foods for nutritional purposes (F. Serra)
- 12.15-13.15 Working session II: "Food technology and functional foods"
• Functional foods enriched with tocopherols and other antioxidants (J. Pokorny)
• Recent advances in meat based functional foods (D. Troy)
• Technological options in relation to functional food production (T. van Boekel)
- 15.30-16.30 Working session III: "Functional foods, nutrition and obesity"
• Functional foods for appetite control (J. Blundell)
• Overfeeding with a normal or low protein diet and weight changes in humans (M. van Baak)
• Does a variable composition of polyunsaturated fatty acids in salmon muscle affect

- the health benefits of fish consumption? (R. Berge)
- 17.00-18.45 Working session IV: "Obesity and related diseases"
Moderator: P. Trayhurn. Introductory remarks
Speakers:
• Diet-induced thermogenesis- does it exist? (J. Nedergaard)
• The dopaminergic D2 and PPAR-gamma 2 gene polymorphisms in the obese patients effort to decrease cardiac risk (A. Dembinska)
• Nutrition, obesity and type 2 diabetes (M. Uusitupa)
• Morbid obesity in adolescents- a new syndrome? (K. Widhalm)
• Leptin- an important growth factor (C. Drevon)

Saturday, 14-12-02

- 9.00-10.15 Working session V: "Nutrigenomics and functional foods"
Moderator: B. Cannon
Speakers:
• The use of DNA microarray technology in exposure assessment (J. Keijer)
• Fetal programming by high protein diet in rats (S. Klaus)
• Impaired induction of UCP3 gene expression in skeletal muscle of preterm newborns by nutritional lipids (J. Kopecky)
• Lipophilic vitamins modulate gene expression in macrophages and antigen presenting cells (G. Schmitz)
- 10.15-11.00 Joint working session with Cost Action B17
- 11.30-12.00 Presentation of the Study "Obesity and functional foods in Europe"

Fermented milk containing *Lactobacillus casei* DN-114 001 modulates immunological suppression associated with academic examination stress

Ascensión Marcos. Departamento de Metabolismo y Nutrición. Instituto del Frío. CSIC. Madrid

Introduction: Immunosuppression has been documented in students under psychological stress from academic examinations. When ingested, lactic acid bacteria (LAB) may have an immunomodulatory role, as reported for *Lactobacillus casei* DN-114 001 which reduced TNF- α production from gastrointestinal biopsies from patients with Crohn's disease (Borrueal et al. 2002). Consumption of milk fermented with LAB including *L. casei* DN-114 001 also reduced the depression of NK cell numbers caused by strenuous exercise in healthy adults (Pujol 2000). The current study aimed to determine if a fermented milk containing LAB including *L. casei* DN-114 001 could modulate the immunosuppression associated with academic examination stress.

Methods: University students were allocated to one of two groups, receiving either a glass of skimmed milk each day (control group, n=63) or two 100 mL portions per day of fermented milk (Actime[®], Danone, France) containing *L. casei* DN-114 001 (10^8 /mL), and yogurt starter cultures *L. bulgaricus* (10^7 /mL) and *Streptococcus thermophilus* (10^8 /mL) (treatment group, n=75). This intervention was conducted for the three weeks prior to, as well as the three-week duration of the student's examination period (June or February), during which time they were instructed not to consume any other fermented milk products. Anxiety (Spielberger state-trait anxiety inventory), immunological parameters (peripheral blood lymphocytes, NK cells) and se-

rum cortisol concentration were measured at baseline and study end. Data are presented as mean \pm SD.

Results: Over the course of the 6-week study, anxiety increased significantly from 40.74 to 61.19 %, with both groups having similar levels of anxiety throughout ($p>0.05$). There was a significant treatment effect ($p=0.032$) on the change in absolute number of lymphocytes during the 6-week study, which decreased in the control group (-0.04 ± 0.88 cells $\times 10^3$ /mm³) and increased in the treatment group (0.37 ± 0.94 cells $\times 10^3$ /mm³). There was a significant treatment effect ($p=0.019$) on the change in absolute number of CD56+ cells during the 6-week study. Absolute CD56+ cells significantly decreased ($p<0.05$) in the control group (-51.97 ± 155.31 cells/mm³), whilst remaining similar ($p>0.05$) in the treatment group (17.29 ± 143.47 cells/mm³). Serum cortisol increased in all students during the study, although only significantly so for the February examination period. Overall, the increase was greater for the control group (4.30 ± 7.45 mg/dL) compared to treatment group (1.75 ± 8.66 mg/dL), although this was not significant ($p=0.062$).

Conclusions: Two servings per day of milk fermented with LAB including *L. casei* DN-114 001 for six weeks significantly increased circulating lymphocyte numbers and ameliorated the decline in NK cell numbers associated with academic examination stress.

Borrueal, N, Carol M, Casellas F, Antolin M, de Lara F, Espin E, et al. Increased mucosal TNF alpha production in Crohn's disease can be downregulated ex vivo by probiotic bacteria. Gut 2002; 5: 659-64.

Pujol P. The effect of fermented milk containing *Lactobacillus casei* on the immune response to exercise. Sports Medicine Training and Rehabilitation 2000: 1-15.

*“Creo en mi corazón siempre vertido,
pero nunca vaciado”*

(Gabriela Mistral, “Credo”)