

Original

Aplicación de análisis multivariado para la diferenciación de individuos sanos según su contenido sérico de minerales

E. Rodríguez Rodríguez*, P. Henríquez Sánchez**, F. López Blanco**, C. Díaz Romero* y L. Serra Majem**

*Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología. Universidad de La Laguna. Santa Cruz de Tenerife.

**Departamento de Ciencias Clínicas. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. España.

Resumen

Objetivos: Se determinaron las concentraciones séricas de Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Se, Mn y P en individuos aparentemente sanos representativos de la población canaria. Sobre la matriz de datos obtenidos se aplicaron técnicas de análisis multivariado con objeto de diferenciar los individuos de acuerdo con diversos criterios, tales como sexo, edad, isla, provincia de residencia, hábito de fumar o beber, ejercicio físico y consumo de agua.

Sujetos y metodología: Se analizaron 395 muestras de suero (187 hombres y 208 mujeres) siendo la edad media de los individuos de $38,4 \pm 20,0$ años. Se recogieron datos individuales acerca de la edad, sexo, peso, talla, tipo de agua consumida, consumo de alcohol, hábito de fumar y ejercicio físico por medio de cuestionarios estandarizados. La determinación de los minerales se realizó por fotometría de llama (Na y K) y espectrofotometría de absorción atómica con llama aire/acetileno (Ca, Mg, Fe, Cu y Zn), con generación de hidruros (Se) o por cámara de grafito (Mn). El P se determinó por colorimetría.

Resultados: El sexo y edad de los individuos afectaron las concentraciones séricas de algunos minerales, Cu y Fe y P y Se respectivamente. La isla de residencia afectó las concentraciones medias de la mayoría de los minerales analizados. Los hábitos de fumar y beber no parecen afectar de forma importante los contenidos medios de los minerales. La práctica de ejercicio físico influyó sobre el contenido sérico de P, Cu y Mn. El tipo de agua consumida influyó sobre el contenido sérico de los electrolitos, y elementos plásticos analizados, pero no en el de los elementos traza.

Después de aplicar análisis discriminante, se observa que los individuos menores de 18 años se diferencian ra-

APPLICATION OF MULTIVARIATE ANALYSIS TO THE SERUM MINERAL AND TRACE ELEMENT CONTENT ON DIFFERENTIATION OF HEALTHY SUBJECTS

Abstract

Objective: Serum concentrations of Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Se, Mn and P were determined in apparently healthy individuals representing of the population of the Canary Islands. Multivariate analysis was applied on the data matrix in order to differentiate the individuals according several criteria such as gender, age, island and province of residence, smoking and drinking habits and physical exercise.

Subjects and methods: 395 serum samples (187 men and 208 women) were analyzed mean age of 38.4 ± 20.0 years. Individuals data about age, gender, weight, height, alcohol consumption, smoking habits and physical exercise were recorded using standardized questionnaires. The determination of minerals was carried out by flame emission spectrometry (Na and K) and atomic absorption spectrometry with flame air/acetylene (Ca, Mg, Fe, Cu, Zn), hybride generation (Se) and graphite furnace (Mn). The P was determined by a colorimetric method.

Results: The sex and age of individuals influenced on the serum concentrations of some minerals, Cu and Fe, and P and Se, respectively. The island of residence influenced the mean concentrations of the most the minerals analysed. The smoking and drinking habits do not seem to influence the mean contents of the minerals in an important manner. Physical exercise had significant influence on the P, Cu and Mn concentrations in serum. The water for consumption influenced on the serum concentrations of the electrolytes and Ca and Mg, but it did not affect the concentrations of the trace elements.

Applying discriminant analysis the individuals lower 18 years were reasonably well differentiated (89% of the individuals correctly classified) from the rest of individuals. A tendency for differentiation of individuals according to the island of residence was also observed.

Correspondencia: Carlos Díaz Romero
Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología
Universidad de La Laguna
38201 Santa Cruz de Tenerife
E-mail: cdiaz@ull.es

Recibido: 8-I-2004.

Aceptado: 20-III-2004.

zonablemente bien (89% de casos correctamente clasificados) del resto. Existe una cierta tendencia a diferenciarse los individuos en base a la isla de residencia.

Conclusiones: La diferenciación de los individuos mediante análisis discriminante aplicado sobre los contenidos séricos de los minerales analizados en función del sexo, provincia e isla de residencia y hábitos o estilo de vida fue baja. Sin embargo, los adultos se diferencian razonablemente de los adolescentes y niños, y los individuos residentes en Lanzarote y La Palma, tienden a separarse del resto de los individuos de su provincia.

(*Nutr Hosp* 2004, 19:263-268)

Palabras clave: Suero. Minerales. Análisis multivariado.

Introducción

La determinación del estado nutricional de una población, entendido como el grado con el que se satisfacen las necesidades de nutrientes, es un paso decisivo para poder mejorar la alimentación de dicha población. Dentro de los parámetros objetivos que permiten la valoración del estado nutricional, los parámetros bioquímicos y hematológicos son ampliamente usados, y dentro de éstos, es interesante incluir la determinación de minerales en fluidos biológicos, siendo particularmente interesantes las determinaciones en muestras sanguíneas y orina.

Las concentraciones de minerales en suero se deben mantener dentro de determinados niveles que se consideran normales o de referencia¹. Para ello, la ingesta dietética, y principalmente la regulación homeostática renal, son procesos esenciales que se mantienen en perfecto equilibrio. Los contenidos séricos de minerales pueden variar atendiendo a diversos aspectos fisiológicos y patológicos. Cuando dichos niveles son superados, o, por el contrario, no son alcanzados se producen problemas de toxicidad o deficiencia, los cuales pueden llegar a ser importantes. En ocasiones pueden existir deficiencias subclínicas que podrían ser causa de una mayor tendencia a desarrollar ciertas patologías. Por tanto, la determinación de las concentra-

Conclusions: A low differentiation of the individuals according to the sex, province or island or residence and habits or life style was observed after application of multivariate analysis techniques. However, the adults were reasonably differentiated from the children and adolescent, and the inhabitants of Lanzarote and La Palma tend to separate from the rest of the individuals of their province.

(*Nutr Hosp* 2004, 19:263-268)

Key words: Serum. Minerals. Multivariate analysis.

ciones séricas de estos elementos en una determinada población es esencial para conocer posibles estados deficitarios o de toxicidad debidos a estos minerales.

Las técnicas de análisis multivariado constituyen una herramienta muy útil para la diferenciación de grupos dentro de una determinada población en base a diferentes criterios. Así, se ha logrado diferenciar pacientes heroinómanos de individuos controles de la población normal, aplicando técnicas de análisis multivariado sobre parámetros bioquímicos y hematológicos². En este trabajo se han determinado las concentraciones de Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Se, Mn y P en una muestra representativa de la población de las Islas Canarias. Seguidamente, se han aplicado técnicas de análisis multivariado para intentar diferenciar los individuos según diversos criterios, tales como sexo, edad, isla o provincia de residencia, hábito de fumar o beber y práctica de ejercicio físico.

Material y métodos

Población estudiada

Se seleccionaron 395 individuos aparentemente sanos (187 hombres + 208 mujeres) entre los 1.744 individuos que participaron en la Encuesta Nutricional de Canarias³. La edad media de los individuos considerados fue de $38,4 \pm 20,0$ años (5-77 años). En la tabla I se describen los parámetros antropométricos más rele-

Tabla I
Descripción de los individuos muestreados

Parámetro	Total (n = 395)	Hombres (n = 187)	Mujeres (n = 208)
Edad (años)	$38,4 \pm 20,0^a$ (5 - 77) ^b	$36,7 \pm 21,1$ (6 - 76)	$40,0 \pm 18,9$ (5 - 77)
Peso (kg)	$66,1 \pm 18,5$ (18,2 - 141,0)	$68,2 \pm 20,6$ (18,2 - 115,6)	$64,3 \pm 16,3$ (21,7 - 141,0)
Talla (cm)	$161,2 \pm 13,9$ (102,5 - 191,5)	$165,2 \pm 16,6$ (102,5 - 191,5)	$157,6 \pm 9,8$ (113,0 - 180,0)
IMC (kg/m ²)	$25,0 \pm 5,3$ (12,5 - 53,4)	$24,3 \pm 4,8$ (12,5 - 35,8)	$25,6 \pm 5,7$ (14,6 - 53,4)

^a Media \pm desviación estándar; ^b (mínimo-máximo).

vantes y edad de los individuos muestreados. Además de edad, peso, talla, sexo e isla de procedencia, se recogieron datos relativos a consumo de alcohol y tabaco y práctica de ejercicio físico usando cuestionarios previamente estandarizados.

Recogida y conservación de las muestras

Una vez que la sangre fue extraída, se dejó coagular espontáneamente. A continuación, se centrifugó (3.000xg) durante 10 min, excluyéndose las muestras hemolizadas. El suero se separó en tubos de polietileno perfectamente lavados con ácido nítrico 0,1 N, y se congeló a -40° C para su conservación y transporte hasta el laboratorio donde se realizó la determinación.

Determinación de Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Se y Mn³

Se tomaron exactamente entre 0,80 y 0,90 ml de suero previamente homogeneizado y descongelado y se depositaron en tubos de digestión a los que se había añadido 4 ml de HNO₃ concentrado suprapure. La mezcla se calentó usando un bloque de digestión de acuerdo con la siguiente secuencia: 100° C/15 min, 125° C/15 min, 150° C/60 min, 160° C/60 min, 170° C/15 min. Luego, se realizó un paso de reducción, con objeto de reducir el Se⁶⁺ a Se⁴⁺ que es la especie que se determina posteriormente, añadiendo 0,5 ml de HCl concentrado suprapure y calentando a 170° C durante 5 min. Después de enfriar el extracto ácido resultante hasta temperatura ambiente, se aforó a 10 ml con agua milli-Q y se guardó en tubos de polietileno hasta proceder a la medida final instrumental. Para la determinación de Na, K, Ca y Mg fue necesario realizar una nueva dilución, para ello se tomó 1 ml de la disolución concentrada y se aforó a 10 ml con agua milli-Q en el caso de Na y K y con una disolución de LaCl₃ (11,1 g/l) para Ca y Mg. Las muestras diluidas también fueron guardadas en tubos de polipropileno hasta la medida final.

Las determinaciones finales de Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn y Se se realizaron mediante un espectrofotómetro de absorción atómica Varian Spectra AA-10 Plus, y las técnicas instrumentales utilizadas fueron la espectrofotometría de absorción atómica con llama aire acetileno (Ca, Mg, Fe, Cu y Zn) y con generación de hidruros (Se), y para los metales alcalinos (Na y K) mediante espectrometría de emisión atómica. El Mn fue determinado usando un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer (Norwalk, CT) Modelo 560 equipado con una cámara de grafito HGA 500, un automuestreador AS 40 y lámpara de D₂ como corrector de fondo. Las condiciones instrumentales usadas para cada uno de los minerales fueron las recomendadas por la casa comercial para este tipo de muestras.

La exactitud de las determinaciones fue evaluada analizando repetidamente muestras de suero humano

comercialmente disponibles (Serorm™ Trace Elements Serum; SERO AS N-1375 Billingstad, Norway). Después de 9 repeticiones las recuperaciones obtenidas fueron de: Na 98,6 ± 3,25%; K 100,7 ± 3,05%; Ca 99,7 ± 3,9%, Mg 99,1 ± 3,3%; Fe 98,0 ± 3,1%; Cu 98,4 ± 2,7%; Zn 101,1 ± 3,8%; Se 98,5 ± 2,6%; Mn 102,8 ± 3,2%.

Determinación de P

Se determinó mediante un espectrofotómetro Kodak Ektachem Clinical Chemistry Slidges, usando un método colorimétrico con molibdato amónico.

Análisis estadístico

Los parámetros estadístico fueron calculados mediante el programa SPSS versión 10.0 para Windows. El test de Kolmogorov-Smirnov fue aplicado para verificar que las variables tenían una distribución normal ($p < 0,05$). Los valores medios obtenidos en los diferentes grupos considerados fueron comparados con el One-Way ANOVA y t-test, asumiendo que había diferencias significativas entre los valores medios cuando la comparación estadística daba valores de $p < 0,05$. Asimismo, se aplicaron técnicas de análisis multivariado tales como análisis de factores, discriminante y cluster sobre el sistema generado por las variables cuantitativas determinadas, con objeto de diferenciar y clasificar las muestras en base a las variables cualitativas consideradas. Sólo se comentan los resultados obtenidos en el análisis discriminante ya que fue el que dio resultados más relevantes.

Resultados y discusión

En la tabla II se exponen los valores medios y desviación estándar de las concentraciones de los minerales analizados para el total de muestras y diferenciando en función del sexo. Asimismo, se incluye el nivel de significación correspondiente a la comparación de los valores medios obtenidos. Se puede observar que, para la mayoría de los minerales, no existen diferencias significativas entre los valores medios. Sólo se puede destacar que los hombres presentaron mayores niveles séricos de Fe⁴ y K³, y menores de Cu⁶ que las mujeres, aunque en el caso del K, las diferencias no fueron significativas. Esto está de acuerdo con los resultados obtenidos en el análisis discriminante realizado introduciendo todos los minerales y tomando como variable cualitativa el sexo de los individuos. Así, se obtuvo un porcentaje de individuos correctamente clasificados dentro de su grupo del 69,1% (66,7% después de validación cruzada), es decir, que hay un porcentaje considerable de individuos que están erróneamente clasificados.

En la tabla III se presenta la influencia de la edad, isla de residencia y ciertos hábitos sobre las concentraciones de los minerales analizados. La edad influye

Tabla II
Concentraciones séricas de los minerales analizados en la población canaria agrupados en función del sexo

	<i>Total</i>	<i>Hombre</i>	<i>Mujer</i>	<i>P (sig)</i>
Na (mM)	146 ± 12	146 ± 13	147 ± 12	0,471
K (mM)	5,36 ± 0,74	5,44 ± 0,79	5,31 ± 0,67	0,064
Ca (mg/l)	95,7 ± 8,5	96,4 ± 8,8	95,1 ± 8,2	0,145
Mg (mg/l)	25,0 ± 3,9	25,2 ± 4,0	24,9 ± 3,7	0,332
P (mg/l)	37,7 ± 7,3	38,1 ± 8,3	37,2 ± 6,2	0,222
Fe (mg/l)	98,1 ± 38,7	108,1 ± 39,2	89,1 ± 36,0	0,000
Cu (mg/l)	1,10 ± 0,25	1,02 ± 0,20	1,18 ± 0,27	0,000
Zn (mg/l)	1,16 ± 0,52	1,18 ± 0,49	1,14 ± 0,55	0,488
Mn (µg/l)	1,06 ± 0,63	1,05 ± 0,63	1,07 ± 0,63	0,726
Se (µg/l)	74,7 ± 25,2	75,2 ± 25,1	74,2 ± 25,4	0,702

Tabla III
Influencia de diversos hábitos sobre la concentración de los minerales estudiados

	<i>Na</i>	<i>K</i>	<i>Ca</i>	<i>Mg</i>	<i>P</i>	<i>Fe*</i>	<i>Cu*</i>	<i>Zn</i>	<i>Se</i>	<i>Mn</i>
1) Edad	No	No	No	No	Sí	No	No	No	Sí	No
2) Isla de residencia	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	No	No	Sí	Sí	Sí
3) Consumo de bebidas alcohólicas**	Si	No	No	No	No	No	No	No	Si	Sí
4) Hábito de fumar**	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No
5) Ejercicio físico**	No	No	No	No	Sí	No	Sí	No	No	Sí
6) Consumo agua	No	Sí	Sí	Sí	No	No	No	No	No	No

*En el caso de Fe y Cu, el estudio se ha realizado considerando hombres y mujeres separadamente, ya que los contenidos de estos metales en suero están afectados por el sexo.

**Se han excluido a los menores de 14 años.

significativamente sobre las concentraciones séricas de algunos minerales, lo cual se debe a cambios en el metabolismo de éstos durante el crecimiento y desarrollo. En estos estudios se ha observado que los individuos de menos de 18 años tenían menores ($p = 0,004$) contenidos medios de Se⁷, y mayores ($p = 0,062$ y $p = 0,000$) de Mn⁸ y de P⁵ respectivamente que el resto, aunque en el caso del Mn no se alcanzó una diferencias estadísticamente significativa. La isla de residencia afecta las concentraciones medias de bastantes minerales, lo cual podría estar relacionado con hábitos alimentarios diferentes, así como diferencias en los contenidos de minerales de los alimentos y bebidas producidos y consumidos localmente. Así, la concentración media de Na detectada en los individuos de la isla de Tenerife fue superior ($p = 0,003$) a los valores medios que se presentaron en el resto de las islas⁵. La potasemia de los individuos de las islas occidentales, en particular los residentes en La Palma, fue superior ($p = 0,000$) a la de los individuos residentes en las orientales⁵. Los individuos residentes en las islas de Tenerife y La Palma, presentaron los mayores

($p = 0,000$) y menores ($p = 0,000$) valores medios de calcemia respectivamente, y los individuos de las islas orientales (Gran Canaria, Fuerteventura y Lanzarote) mostraron concentraciones medias de Mg y P significativamente mayores ($p = 0,000$ y $p = 0,002$ respectivamente) que el resto^{5,9}. Con respecto a los elementos traza, los residentes en La Palma y el Hierro mostraron concentraciones medias de Se significativamente inferiores ($p < 0,05$), al resto, mientras que los residentes en la isla de Lanzarote presentaron las mayores ($p = 0,000$) concentraciones medias de Se⁷. Esto último podría estar relacionado con el mayor consumo de pescado que manifestaron los habitantes de esta isla¹⁰. Los individuos de Fuerteventura presentaron los mayores ($p < 0,05$) contenidos séricos de Mn y Zn, siendo los residentes en la isla del Hierro los que mostraron menores ($p = 0,039$) niveles medios de Zn⁶⁻⁸.

En cuanto al consumo de bebidas alcohólicas se ha considerado por un lado bebedores y abstemios, y por otro lado el consumo de cerveza, vino y bebidas espirituosas de forma separada. El consumo de alcohol afecta significativamente los niveles de Se, de tal for-

ma que los individuos que indicaron consumir alcohol presentaron mayores ($p = 0,033$) concentraciones de este mineral que los no consumidores⁷. Asimismo, aquellos individuos que declararon consumir cerveza o vino 1-2 veces/semana presentaron menores ($p < 0,05$) concentraciones de Mn que los no bebedores⁸. En general, el consumo de cerveza, vino y bebidas espirituosas no parece influir de forma importante sobre los contenidos séricos de los metales alcalinos y alcalino-térreos. Sin embargo, se observa que los individuos con consumos superiores a siete cervezas o bebidas espirituosas semanales presentaron valores medios inferiores de calcemia ($p = 0,020$) y natremia ($p = 0,001$) respectivamente que resto de los individuos considerados conjuntamente⁵. No se observaron diferencias significativas en las concentraciones séricas de los minerales estudiados entre fumadores y no fumadores, por lo que se deduce que el hábito de fumar no influye sobre las concentraciones de los minerales estudiados. La práctica de ejercicio físico afecta las concentraciones séricas de P, Cu y Mn. Así, se observó un incremento ($p = 0,000$) de los contenidos séricos de P a medida que se incrementó la práctica de ejercicio físico, ocurriendo lo contrario en el caso del Cu⁶ ($p = 0,007$). Por otra parte, los deportistas presentaron mayores ($p = 0,046$) niveles de Mn que el resto⁸. El consumo o no de agua envasada influye notablemente en los niveles de K, Ca y Mg⁵. Los individuos que indicaron consumo de agua del grifo, principalmente los individuos de las islas occidentales, presentaron mayor ($p = 0,000$) potasemia que los que indicaron consumo de agua embotellada⁵. En el caso de los elementos plásticos el comportamiento fue inverso del anterior. Es decir, los individuos que indicaron consumo de agua embotellada mostraron concentraciones séricas de Ca, Mg y P superiores ($p = 0,015$, $p = 0,000$

y $p = 0,054$ respectivamente) a los que indicaron consumo de agua del grifo⁵.

Aunque se han detectado numerosas diferencias significativas entre los valores medios de los minerales analizados, no se pueden establecer diferencias claras entre grupos de individuos. Por ello se han aplicado técnicas de análisis multivariado, en particular análisis discriminante, que son técnicas estadísticas más potentes para la diferenciación de individuos. Cuando se realizó un análisis discriminante, introduciendo todas las variables, para tratar de clasificar los individuos en función de la provincia de residencia se obtuvo también una diferenciación muy limitada, con una clasificación global del 65,8% (64,2% después de validación cruzada). A continuación, se realizó un análisis discriminante, considerando por separado la provincia de Las Palmas de Gran Canaria y la de Santa Cruz de Tenerife, y tomando como variable cualitativa la isla de residencia. Se obtuvieron también relativamente bajos porcentajes de clasificación correcta, un 65,6% y un 59,7% de casos correctamente clasificados dentro de su isla, para las dos provincias respectivamente. En la figura 1 se muestra, mediante un diagrama de dispersión, la representación de los individuos en las dos primeras funciones discriminantes extraídas. Se puede observar como existe una clara tendencia a diferenciarse los individuos de Lanzarote (fig. 1b) y de La Palma (fig. 1a) en las provincias de Las Palmas de Gran Canaria y de Santa Cruz de Tenerife respectivamente. Esto probablemente es debido a diferencias en los hábitos alimentarios de los individuos de ambas islas con respecto al resto de las islas de cada una de las provincias.

Considerando como variable cualitativa la edad (menor de 18 años y mayor de 18 años) y en base a los minerales analizados, se obtuvo un 86,9% (85,0% de ca-

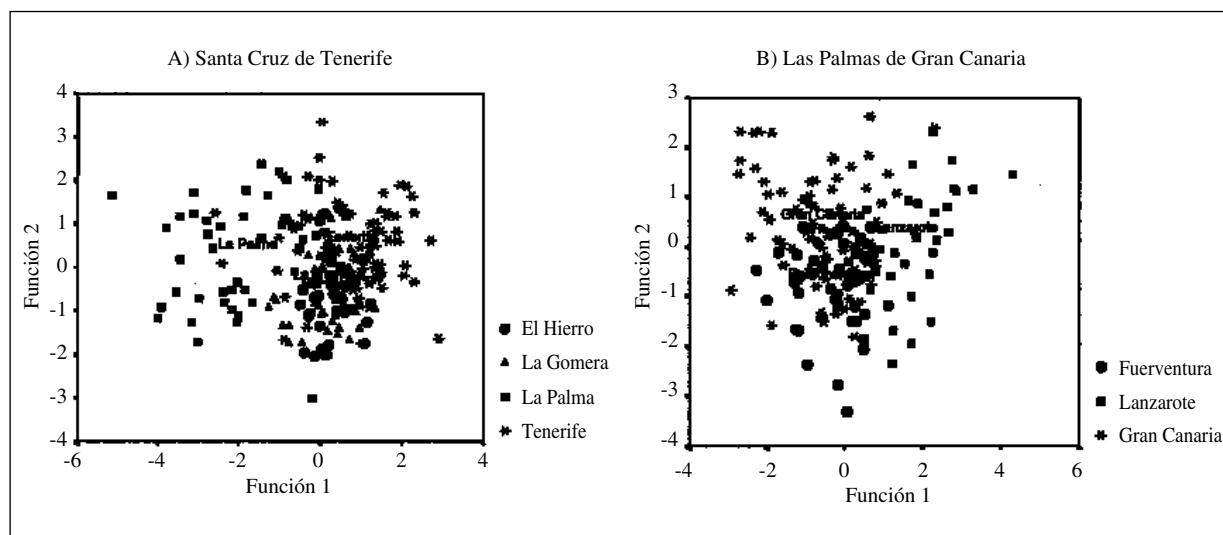


Fig. 1.—Representación de las primeras funciones discriminantes canónicas según la isla de residencia para las dos provincias canarias: A) Santa Cruz de Tenerife. B) Las Palmas de Gran Canaria.

Tabla IV
Resultados de la clasificación

	Edad	Grupo de pertenencia pronosticado	
		< 18 años	≥ 18 años
Original	< 18	77 (88,5%)	10 (11,5%)
	> 18	38 (13,6%)	241 (86,4%)

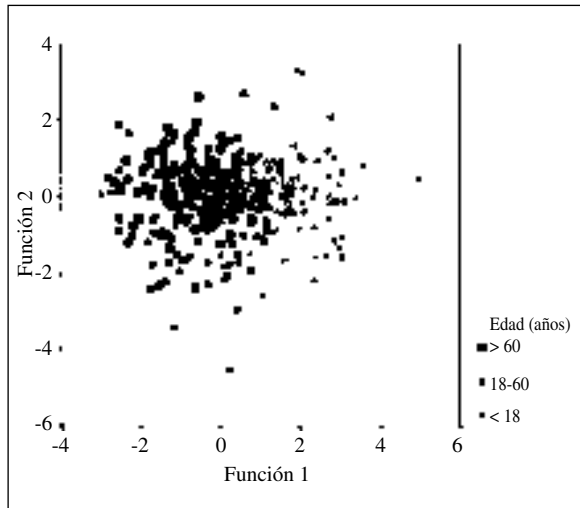


Fig. 2.—Representación de las dos primeras funciones discriminantes según la edad de los individuos.

Los grupos validados mediante validación cruzada de individuos correctamente clasificados dentro de su grupo (tabla IV). Sin embargo, no se pudo diferenciar los individuos mayores de 60 años del resto de los adultos. En la figura 2 se presenta la representación gráfica usando las dos primeras funciones discriminantes obtenidas, en la que se observa que los niños y adolescentes tienden a diferenciarse de los adultos y personas de más de 60 años, sin embargo, no se aprecia tendencia a separarse los individuos de estos dos últimos grupos.

Después de realizar diversos análisis discriminantes para clasificar los grupos de individuos en función del

consumo de bebidas alcohólicas, hábito de fumar, práctica de ejercicio físico y tipo de agua consumida no se observaron tendencias claras para la diferenciación.

Referencias

- Iyengar V, Woittiez J: Trace elements in human clinical specimens. Evaluation of literature data to identify reference values. *Clin Chem* 1988, 34:474-481.
- Díaz-Flores Estévez JF, Díaz-Flores Estévez F, Hernández Calzadilla C, Rodríguez Rodríguez EM, Díaz Romero C, Serra-Majem L: Application of linear discriminant analysis to the biochemical and haematological differentiation of opiate addicts from healthy subjects. A case control study. *Eur J Clin Nutr* 2003, 58:449-455.
- Serra Majem L, Henríquez Sánchez P, López Blanco F, Álvarez León EE, Díaz Romero C, Rodríguez Rodríguez E, Pastor Ferrer MC, Díaz Cremades J, Soria López A, Hernández Briz MJ: Encuesta nutricional de Canarias 1997-1998. Evaluación bioquímica del estado nutricional. Volumen 4, Servicio Canario de Salud, Litografía A. Romero, S.A., Tenerife, 2000.
- Henríquez Sánchez P, Díaz Romero C, Rodríguez Rodríguez E, López Blanco F, Álvarez León E, Pastor Ferrer MC, Serra Majem L: Evaluación bioquímica del estado nutricional de la población canaria. *Arch Latinoam Nutr* 2000, 50:43-54.
- Díaz Romero C, Henríquez Sánchez P, López Blanco F, Rodríguez Rodríguez E, Serra Majem L: Concentraciones de Na, K, Ca y P en sueros de una muestra representativa de la población canaria. *Nutr Hosp* 2002, 17:204-212.
- Díaz Romero C, Henríquez Sánchez P, López Blanco F, Rodríguez Rodríguez E, Serra Majem L: Serum copper and zinc concentration in a representative sample of the Canarian population. *J Trace Elem Med Biol* 2002, 16:75-81.
- Díaz Romero C, López Blanco F, Henríquez Sánchez P, Rodríguez Rodríguez E, Serra Majem L: Serum selenium concentration in a representative sample of the Canarian population. *Sci Total Environ* 2001, 269:65-73.
- Díaz Romero C, López Blanco F, Henríquez Sánchez P, Rodríguez Rodríguez E, Serra Majem L: Serum manganese concentration in a representative sample of the Canarian population. *Biol Trace Elem Res* 2001, 80:43-52.
- Díaz C, Henríquez P, Rodríguez E, Ribas L, Serra-Majem L: Dietary magnesium intakes and serum magnesium concentrations in the Canarian population. En: *Advances in Magnesium: pharmacology, metabolism and nutrition*. Capítulo 10. Escanero JF, Alda JO, Guerra M, Durlach J (eds.). Prensas Universitarias de Zaragoza, Zaragoza, 2003: 87-91.
- Serra Majem L, Armas Navarro A, Ribas Barba L, en nombre del equipo investigador de ENCA (1997-98): Encuesta nutricional de Canarias 1997-1998. Hábitos alimentarios y consumo de alimentos. Volumen 1, Servicio Canario de Salud, Litografía A. Romero, S.A., Tenerife, 1999.