

**BIODISPONIBILITAT DE COMPONENTS
MINORITARIS DELS ALIMENTS:
NUTRIENTS I COMPOSTOS BIOACTIUS**

DISCURS

llegit a l'acte d'ingrés de l'Acadèmica Corresponent

Il·lustre Dra. Rosaura Farré Rovira

Celebrat el dia 13 de desembre de 2010

Presentació a càrrec de l'Acadèmic Numerari

Molt Il·lustre Dr. Jordi de Bolós Capdevila

Barcelona
2010

*L'Acadèmia no es fa solidària de
les opinions que s'exposen en les
publicacions, de les quals és responsable
l'autor:*

Dipòsit legal: B-27272-2010
T.G. VIGOR S.A.

Excel·lentíssim Sr. President
Molt il·lustres Senyores i Senyors Acadèmics
Senyores i Senyors

Vull agrair al President i a la Junta de l'Acadèmia l'honor que m'han fet, al encarregar-me la presentació de la Dra. Rosaura Farré en la sessió solemne del seu ingrés a la Reial Acadèmia de Farmàcia de Catalunya.

Presentar a una persona que reuneix els mèrits acadèmics de la Dra. Rosaura Farré i que és avui una autoritat reconeguda en el domini científic de la ciència dels aliments; ciència a la que ve dedicant vocacionalment tota la seva vida, és per mi motiu d'especial satisfacció. Augmenta encara aquests motius de satisfacció el fet de ser la Rosaura una antiga alumna que vaig tenir quan, a començaments dels anys seixanta, iniciava la meva dedicació a la docència com a professor de química de batxillerat en el Col·legi Isabel de Villena de Barcelona.

El Col·legi Isabel de Villena, dirigit per la reconeguda pedagoga Carme Serrallonga, era un dels col·legis que s'esforçaven per mantenir viu el moviment de renovació pedagògica que va ser molt important a Barcelona abans de la guerra civil. Les classes en aquell col·legi es desenvolupaven de forma col·loquial en un ambient de respecte i d'interès per aprendre, que no he retrobat posteriorment en molts centres oficials tan de batxillerat com universitaris. Guardo d'aquella època i de l'alumna Rosaura Farré un excel·lent record.

Al acabar el batxillerat i iniciar els estudis universitaris la jove Rosaura no va passar per el període de dubtes sobre quina carrera elegir, que és tan freqüent en aquestes etapes de la vida. Ella ho tenia molt clar ja que, des de petita, deia que volia ser farmacèutica i de-

dicar-se a temes relacionats amb els aliments, induïda per vivències familiars al costat del seus pares, forners de professió i amics de farmacèutics. Per ella el procés d'elaboració del pa no tenia secrets.

Va iniciar els estudis universitaris a la Universitat de Barcelona l'any 1964 cursant el curs comú de ciències a la plaça de la Universitat i els quatre cursos posteriors a la Facultat de Farmàcia de Pedralbes. Va acabar els estudis de llicenciatura el juny de 1969.

Al mes següent d'haver acabat la carrera va ser admesa, com a ajudant en pràctiques, al laboratori d'Anàlisi Clíniques de la Mútua l'Aliança. El seu interès i bona disponibilitat pel treball de laboratori va fer que es guanyés la confiança dels responsables del laboratori, que es varen atrevir a encarregar-li alguna suplència i al mes d'octubre del mateix any li varen oferir un contracte que ella va acceptar.

El grau de llicenciatura no era preceptiu per l'exercici professional, però era molt convenient pels que volien progressar en la carrera universitària. Ella va escollir obtenir-lo amb la nova modalitat de tesina, que es va introduir aquell mateix any, amb la il·lusió d'iniciar-se en els treballs de recerca al laboratori.

El seu interès per l'alimentació l'impulsà a dirigir-se a la càtedra d'Anàlisi Química, Bromatologia i Toxicologia i parlar primer amb la Dra. Carme de la Torre i posteriorment amb el Dr. Francisco Moreno Martín per tal de poder realitzar el treball de tesina en el seu laboratori.

Cal subratllar la bona acollida que va trobar per part d'aquests professors, dels que va rebre el recolzament i mestratge que en aquells moments necessitava. Considerant la seva procedència familiar, i l'ús no sempre correcte d'additius millorants en l'elaboració del pa, li encarregaren com a treball de recerca les tècniques per la seva detecció en les farines.

El primer any d'activitat professional en el curs 1969-1970 el passà dedicada totalment als treballs de laboratori. Al matí al laboratori de l'Aliança i a la tarda a la Facultat, desenvolupant els treballs de la tesina.

L'any 1970 es concediren les primeres places de Professor Ajudant adscrites a les diverses Càtedres de la Facultat de Farmàcia. No eren places atractives des del punt de vista econòmic, ja que en molts casos els obligava a renunciar a altres activitats més ben remunerades, però eren interessants pels nous llicenciats que volien optar per la dedicació a la Universitat, ja que els permetien entrar a formar part del quadre de professorat de la Facultat. La majoria de les persones que hi optaren estaven vocacionalment motivades com la Rosaura Farré i altres companyes de la seva promoció: M^a Assumpció Alsina, Teresa Felipó i Montserrat Portús totes les quals han assolit el nivell de Catedràtic a la Universitat.

Les limitacions en el material i la infraestructura de que es disposava en aquells temps, feia difícil la realització d'una tesi doctoral de qualitat en la pròpia càtedra. Per això s'orientava des de la càtedra als que volien obrir-se camí en l'activitat universitària a fer estàncies a l'estranger. La Rosaura va obtenir una beca de recerca de dos anys de durada del Ministeri d'Assumptes Exteriors de França que li permeté fer una estada a l'Institut d'Agronomia de Paris-Grignon, on el Dr. Abel Mariné acabava de finalitzar la tesi doctoral. Inicià la seva estada en aquest centre el mes d'octubre de 1971 i allà, sota la direcció del Professor Dr. Claude Costes, va poder fer la seva tesi doctoral sobre els carotenoides de les farines de blat, tesi que defensà a Barcelona el mes de juny de 1974.

De tornada a Barcelona es reincorporà a les activitats de la càtedra sota la immediata direcció i tutela de la Dra. M^a Carme de la Torre, impartint classes pràctiques, alguna classe teòrica i realitzant treballs de recerca, continuant la línia iniciada en la seva tesi doctoral sobre carotenoides i iniciant una nova línia sobre determinació d'elements minerals en els aliments, línia suggerida i tutelada pel Professor Moreno, que era un gran expert en el camp de l'anàlisi química.

En el curs acadèmic 1977-78, gràcies a la proposta del Dr. Claudi Faulí, llavors degà de la Facultat de Farmàcia de Sevilla, es va incorporar com a professora no numerària a aquesta Universitat, on estaven iniciant els estudis de Farmàcia i tenien dificultats per cobrir la docència de Bromatologia i Toxicologia. Va ser, per la Dra. Farré, una magnífica ocasió per poder impartir la matèria completa, teòrica i pràctica, a la primera promoció de farmacèutics d'aquella

Universitat. El Professor Agustín Garcia Asuero, que fa poc va ingressar a la nostra Acadèmia, va fer esment en el seu discurs d'ingrés de la important aportació formativa que aquest curs professat per la Dra. Rosaura Farré, seguint els esquemes de la docència que es feia a la Universitat de Barcelona, va representar pels alumnes d'aquella primera promoció.

Al final d'aquell curs es presentà a les oposicions per cobrir una plaça de Professor Adjunt numerari adscrita a la càtedra de la Universitat de Barcelona. Tot i haver guanyat aquelles oposicions no va poder ocupar la plaça, ja que pocs mesos després va presentar-se a una nova oposició per la plaça de Professor Agregat de la mateixa Universitat, que també guanyà.

Durant els anys compresos entre 1978 i 1971 va exercir les funcions de Professora Agregada a la Universitat de Barcelona dedicant-se a l'ensenyament de l'assignatura d'Anàlisi Química, una de les assignatures encarregades a la càtedra, i a la investigació.

En aquells anys va dirigir la tesi doctoral de Susana Buxaderes, actualment professora del Departament, sobre "Niveles de cinc y de cobre en sangre total y suero de la población de Barcelona".

L'any 1981 accedeix a Catedràtica d'Universitat i passa a ocupar la Càtedra d'Anàlisi Química, Bromatologia i Toxicologia de la Universitat de València (UV).

A València inicia una nova etapa de la seva vida molt fecunda en resultats, que s'ha perllongat durant més de 25 anys.

Al començament de la seva nova activitat va haver de superar certa fredor del personal de la Càtedra, que ja tenia una inèrcia de funcionament i veia en la nova Catedràtica una desconeguda que podia canviar els seus esquemes. La seriositat en el treball, experiència docent i bon fer de la Dra. Rosaura Farré va capgirar en poc temps aquesta situació, creant un grup de treball eficient en la recerca i entre els quals regnava una sincera amistat.

Els mitjans disponibles en la Càtedra eren molt limitats i això representava una dificultat seriosa per els seus propòsits de recerca. Aquest problema es pogué superar al comptar amb la col·laboració

de l' Institut d'Agroquímica i Tecnologia dels Aliments de València que va autoritzar la utilització dels seus instruments per les recerques de la Càtedra.

Els primers treballs seguiren en la línia de determinació del contingut de metalls en els aliments i la influència dels diferents factors que poden modificar-los. Amb el temps les línies de recerca es van anar ampliant cobrint nous camps de la Ciència dels Aliments, tals com estabilitat de matèries primeres i productes finals, alimentació infantil, biodisponibilitat de minerals, tòxics i antioxidants mitjançant estudis in vitro amb diàlisi i cultius cel·lulars, que donaren lloc a tesis doctorals i publicacions de molt bona qualitat que anaren augmentant el prestigi de l'escola que dirigia la Dra. Farré.

La qualitat de les publicacions li obriren les portes a interessants col·laboracions amb altres Centres i Laboratoris del país i de l'estranger i amb empreses del ram de l'alimentació, sent molt important la col·laboració amb l'empresa Hero Espanya SA que es va iniciar l'any 1996 i segueix encara en l'actualitat. També li comportaren la participació en accions europees tals com els programes FLAIR i COST.

Paral·lelament a la seva activitat investigadora desenvolupava també una destacada activitat docent, principalment a la Facultat de Farmàcia, però també en el màster de la Universitat Politècnica de València (UPV), en el curs d'especialització en tecnologia dels aliments que impartia l' Institut d'Agroquímica i Tecnologia dels Aliments de València i en cursos que organitzaven els Col·legis de Farmacèutics de València i d'Alacant.

Una fita important d'aquesta activitat docent va ser l'inici dels estudis de segon cicle de Ciència i Tecnologia dels Aliments, que varen organitzar conjuntament les Universitats de València (UV) i Politècnica de València (UPV); malauradament i a pesar de l'èxit de la primera promoció d'aquesta nova llicenciatura, les dues Universitats no pogueren continuar, en les següents promocions, la seva col·laboració i hagueren de impartir per separat aquesta llicenciatura.

Un aspecte que també cal destacar de la seva activitat a la Universitat de València, és la seva participació en la gestió universitària, al acceptar càrrecs de responsabilitat tals com el de vicedegana de

la Facultat de Farmàcia i el de cap del departament interfacultatiu de Medicina Preventiva, Salut Pública, Bromatologia, Toxicologia i Medicina Legal de nova creació.

La seva situació familiar, filla única pares ja grans i amb problemes de salut li varen crear la necessitat de tornar a Barcelona. La Universitat de València li concedí una comissió de serveis i al setembre de 2006 s'incorporà a la direcció de la Fundació CESNID i del Centre d'Ensenyament Superior de Nutrició i Dietètica de Barcelona.

Aquesta nova activitat li va permetre establir la seva residència a Barcelona, satisfent les seves necessitats familiars i, al mateix temps, recuperar vells contactes amb societats i institucions que la distància havia deixat una mica somorts.

Després de més de 25 anys de prestar serveis a la Universitat de València amb dedicació exclusiva, la necessitat de fer costat a la seva mare ja vídua, la fa acollir a l'oferta de prejubilació de la dita universitat. El fet de residir a Barcelona no ha significat de cap manera deixar de mantenir un estret contacte amb el seu equip de recerca de la Universitat de València.

La seva extensa i valuosa activitat científica ha donat com a resultat més de 150 articles en revistes indexades de bona qualitat en les àrees de coneixement a les que pertanyen.

La direcció de 33 tesis doctorals entre les que cal destacar les de Reyes Barberà, M. Jesús Lagarda i Amparo Alegría que avui són professores al departament de València i components de l'equip que es va formar en els inicis de la seva estada a aquesta universitat.

Són a destacar la formació d'un equip de recerca eficient i ben avingut adscrit a Universitat de València, l'obtenció d'importants ajudes a la recerca de la CAICIT, la CICYT i la Generalitat Valenciana i la participació en més de 100 Congressos i Reunions Científiques, actuant com a organitzadora en alguns d'ells tals com SENBA (València 1998), SEN (Sitges 2009) i FESNAD (Barcelona 2010).

La Dra Rosaura Farré és membre fundadora de l'Associació Catalana de Ciències de l'Alimentació, membre de la Asociación de Científicos y Tecnólogos de los Alimentos de València de la que en va

ser presidenta. Actualment és presidenta de la Sociedad Española de Nutrición i forma part del comitè científic de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición.

No voldria acabar aquesta presentació sense felicitar a la família de la nova acadèmica, i molt particularment a la seva mare, pel brillant currículum de la seva filla i per les característiques del seu caràcter exigent i responsable en el treball i al mateix temps afable en el tracte i molt sensible als valors de l'amistat i de la companyonia. Estic segur que en el bon caràcter i el saber fer de la seva filla, ella com a mare algun mèrit hi ha de tenir.

Crec que la meva exposició, necessàriament breu, posa en evidència que l'ingrés de la Dra. Rosaura Farré Rovira representa un gran enriquiment de la nostra Acadèmia, que des d'avui és també la seva. Sols em queda demanar al nostre President que vulgui donar-li la paraula per que ens exposi el seu discurs que versarà sobre el tema "Biodisponibilitat de Components Minoritaris dels Aliments: Nutrients i Compostos Bioactius".

Moltes gràcies per la seva atenció.

**BIODISPONIBILITAT DE COMPONENTS
MINORITARIS DELS ALIMENTS:
NUTRIENTS I COMPOSTOS BIOACTIUS**

DISCURS

llegit a l'acte d'ingrés de l'Acadèmica Corresponent
Il·lustre Dra. Rosaura Farré Rovira

**Excel·lentíssim Senyor President de la Reial Acadèmia de
Farmàcia de Catalunya
Molt Il·lustres Senyores i Senyors Acadèmics
Benvolguts companys i amics
Senyores i senyors**

En primer lloc vull agrair als il·lustres acadèmics Jordi de Bolós, Josep Iglesias i Jaume Piulats haver-me proposat com a membre de l'Acadèmia. En aquest agraïment també hi vull incloure el Dr. Josep M. Ventura pel paper que ha tingut en la meva presència avui aquí.

Al Dr. Jordi de Bolós li agraeixo de forma especial haver acceptat fer la meva presentació i em fa una il·lusió especial pel motiu que aviat comentaré.

Quan vaig acabar els estudis de la llicenciatura de Farmàcia mai no em va passar pel cap pensar que un dia ingressaria a la Acadèmia de Farmàcia, un fet que avui es produeix.

A tall de presentació he de dir que sóc barcelonina i que vinc d'una família de forners. Quan de petita em preguntaven què volia ser de gran deia que farmacèutica encara que a casa no hi havia cap tradició. En aquest moment he d'agrair als meus pares l'interès que sempre van mostrar pels meus estudis, la disciplina del treball que em van saber inculcar i l'autonomia que em van proporcionar malgrat ser filla única. A ells, doncs, moltes gràcies.

Quan va ser el moment de triar els estudis em vaig decantar per la Farmàcia perquè incloïa assignatures (en aquell temps en dèiem així) relacionades amb els aliments. Probablement el contacte diari

i directe amb el pa havia influït en el meu interès per l'alimentació mentre que alhora podia fer realitat el desig de quan era nena.

Em vaig incorporar a la Facultat de Farmàcia de Pedralbes l'any 1965, després del curs comú a l'edifici central de la plaça Universitat. A la Facultat vaig retrobar el Dr. Jordi de Bolós que havia estat el meu professor de química a l'escola Isabel de Villena i que em va ensenyar què era un equivalent químic. Ell no sabrà mai prou el servei que aquest ensenyament m'ha fet al llarg de la vida.

El professor Francisco Moreno Martín i la doctora Carmen de la Torre són els professors que han influït més en el meu futur. A ells em vaig adreçar en acabar la carrera amb la intenció de fer una tesi. Aquest pas determinaria el meu futur professional. Mai m'havia passat pel cap ser professora d'universitat i he de dir que la circumstància que ho determinà va ser el fet de trobar-me en el lloc adequat en el moment oportú. Tot i això, avui puc dir que he viscut la meua vida professional amb plena dedicació, interès i satisfacció. Moltes gràcies al professor Moreno Martín pel seu mestratge i a la doctora de la Torre per la dedicació i el guiatge que em van dispensar en els meus primers passos per la vida universitària. En els meus inicis en la recerca també va tenir-hi una contribució important el professor Claude Costes que va dirigir els treballs de la meua tesi doctoral a l'Escola Nacional d'Agronomia de Grignon, a França. A ell també he de manifestar el meu agraïment.

Un cop acabada la tesi vaig tornar a la càtedra d'Anàlisi Química, Bromatologia i Toxicologia on em vaig iniciar en la docència, principalment en classes pràctiques. Recordo els companys d'aquella època: Josep Boatella, María Comas, Isabel Méndez, Xavier Miquel, Martí Pujol, Eduardo López, Leandro Lugar i María Xirau i també els aleshores estudiants Ana Isabel Castellote, Rafael Codony, Montserrat Domenech, Carmen López, Isabel Messeguer, Joan Permanyer, Magda Rafecas, Josep Rodas i tant d'altres, alguns dels quals avui són aquí. Amb ells vaig començar la direcció de treballs. En aquest punt he de fer menció especial de la doctora Susana Buxaderas, autora de la primera tesi doctoral que vaig dirigir.

El curs 1977 vaig emprendre l'aventura d'anar a Sevilla a impartir Bromatologia i Toxicologia als estudiants de la primera promoció de la Facultat de Farmàcia, allà vaig tenir l'oportunitat d'explicar

el programa sencer de l'assignatura i de fer bons amics. Compartia despatx amb el Dr. Agustín García Asuero que fa poc va llegir el discurs d'ingrés en aquesta Acadèmia.

Un cop acabat el curs torno a Barcelona. Amb poc temps de diferència faig les oposicions a professor adjunt i a professor agregat i durant els cursos (1977-78; 1978-79 i 1980-81) imparteixo Anàlisi Química a la Facultat de Farmàcia de Barcelona. Davant de la incertesa del futur dels professors agregats opto a la càtedra d'Anàlisi Química, Bromatologia i Toxicologia de la Facultat de Farmàcia de la Universitat de València on he desenvolupat la major part de la meva vida acadèmica i professional.

Els més de 25 anys d'estada a València, les dificultats a vèncer en una facultat en les primeres etapes, amb medis limitats, però sobretot per les persones amb qui he treballat i amb qui he aconseguit superar els problemes, em fan considerar aquella institució com la meva facultat. Ara, ja jubilada, quan hi torno m'hi sento sempre a casa.

Entre els meus companys de la primera etapa he de mencionar en primer lloc les meves benvolgudes companyes Reyes Barberá, M. Jesús Lagarda i Amparo Alegría que, per aquest ordre, foren les primeres tesis doctorals d'aquesta etapa i amb qui vaig començar els estudis sobre els minerals gràcies a la bona voluntat de Dr. Enrique Tortosa, aleshores director de l' Institut d'Agroquímica i Tecnologia dels Aliments de València, que ens permeté utilitzar la instrumentació necessària per mesurar cobalt, crom i níquel i començar una línia de recerca sobre els elements minerals.

La llarga trajectòria docent i de recerca a la Universitat de València ha permès el meu desenvolupament professional, millorar (o almenys així ho crec) la meva capacitat docent i de relació amb els meus companys i la societat. En ser pràcticament impossible anomenar els companys de tot aquest període em limitaré als més antics Carmen Escriba, Guillermina Font, Anna Frígola, Jordi Mañes, Juan Carlos Moltó i tants d'altres que farien la llista interminable. Moltes gràcies a tots.

El meu interès han estat els aliments, els nutrients i altres components dels aliments i el paper que juguen en l'organisme. Els estudis

inicials de determinació dels continguts d'elements minerals dels aliments em van portar a avaluar l'aportació dietètica total i més endavant a estimar l'estat nutricional en minerals de l'organisme mitjançant el mesurament de biomarcadors i, ja finalment, a l'estudi i l'avaluació de la biodisponibilitat mineral i d'altres components de la dieta, i és aquest darrer tema el que he triat per al discurs d'entrada a la Reial Acadèmia de Farmàcia de Barcelona ja que considero que és representatiu de la meva tasca i vaig pensar que podia ser d'interès general.

ÍNDEX

1. Introducció

2. Biodisponibilitat (BD), bioaccessibilitat (BA) i bioactivitat (BC)

- 2.1. Influència de la preparació dels aliments en la biodisponibilitat dels components
- 2.2. Mètodes per mesurar la biodisponibilitat (BD), la bioaccessibilitat (BA) i la bioactivitat (BC)

3. Elements minoritaris essencials

- 3.1. Ferro
 - 3.1.1. Factors dietètics que influeixen en la BD del ferro
 - 3.1.2. Fonts de ferro per enriquir els aliments o per utilitzar com a suplement
- 3.2. Zinc
 - 3.2.1. Factors dietètics que influeixen en la BD del zinc
 - 3.2.2. Grups vulnerables a les deficiències de ferro i de zinc

4. Elements tòxics

- 4.1. Arsènic
- 4.2. Mercuri

5. Compostos bioactius

- 5.1. Carotenoides
 - 5.1.1. Factors que influeixen en la BD dels carotenoides
 - 5.1.2. Fonts de carotenoides i alguns beneficis per a la salut
- 5.2. Polifenols
 - 5.2.1. Factors que influeixen en la BD dels polifenols
 - 5.2.2. Fonts de polifenols i biodisponibilitat
- 5.3. Altres (péptids bioactius)

6. Comentaris finals

7. Bibliografia

1. Introducció

Els patrons alimentaris actuals, amb les deficiències i els excessos de nutrients que comporten i la detecció mitjançant assaigs *in vitro* de propietats beneficioses per a la salut de components minoritaris dels aliments, plantegen reptes importants a les ciències de l'alimentació i la nutrició i, en conseqüència, també a la indústria alimentària. Les administracions públiques i/o les societats científiques tenen el repte d'establir recomanacions nutricionals que garanteixin la satisfacció de les necessitats i, si és possible, contribueixin a millorar la salut en les condicions de vida actuals.

Des fa uns anys, l'objectiu de l'alimentació ha passat de subministrar aliments suficients per proporcionar les aportacions d'energia i nutrients necessaris per satisfer els requeriments nutricionals i revertir els símptomes de deficiència, a proveir components dels aliments (nutrients i compostos bioactius) en quantitat i de qualitat suficients per acomplir les necessitats de l'organisme, millorar la salut i el benestar i reduir el risc de malalties. Aquest fet porta a replantejar les recomanacions relatives a les aportacions de nutrients i components bioactius necessàries per gaudir d'un estat nutricional òptim.

La proposta d'ingestes recomanades de nutrients i compostos bioactius ha de tenir en compte els requeriments de l'organisme i la biodisponibilitat (BD) dels compostos proporcionats per satisfer-les perquè només s'utilitza una fracció del nutrient/compost bioactiu ingerit.

Conèixer la BD és bàsic per estimar la quantitat d'un determinat nutrient que s'ha d'aportar per satisfer els requeriments, en especial en el cas dels nutrients minoritaris, perquè les aportacions són baixes i les deficiències amb conseqüències greus per a la salut es distribueixen per tot el món. A més, es poden produir interaccions complexes entre els nutrients minoritaris o amb altres components de la dieta que poden afectar de forma positiva o negativa la BD. Per aquesta raó, la majoria d'estudis de BD corresponen a minerals i vitamines i els més recents inclouen compostos bioactius dels aliments com els carotenoides i els polifenols.

Entre els elements minerals essencials minoritaris destaquen pel seu interès i una baixa o relativament baixa BD, el ferro i el zinc. La BD també té un paper destacat en la toxicitat d'elements com l'arsènic i el mercuri per la influència sobre la toxicitat de la forma química en què es troben.

Pel que fa als compostos bioactius dels aliments, les etapes inicials d'avaluació, en general per mètodes *in vitro*, van estar centrades en l'estudi de les propietats beneficioses per a la salut amb resultats que sovint han creat expectatives sense tenir en compte si un cop a l'organisme, els compostos són absorbits i el cos els utilitza. Superada aquesta primera etapa s'ha vist la necessitat d'estudiar la BD per avaluar el comportament del compost o dels seus metabòlits a l'organisme. A aquest punt s'hi suma la recerca i el disseny d'aliments funcionals i l'obligació de demostrar-ne les propietats en l'organisme, etapa que ha proporcionat un nou impuls als estudis de BD.

2. Biodisponibilitat (BD), bioaccessibilitat (BA) i bioactivitat (BC)

La definició de biodisponibilitat (BD) varia segons l'àrea d'aplicació (alimentació, edafologia, farmacologia...). En alimentació i nutrició, la BD es refereix a la fracció de nutrient o de compost bioactiu disponible per a la utilització en les funcions fisiològiques o per a l'emmagatzematge (Fairweather-Tait, 1993). És la mesura de la quantitat total de nutrient que l'organisme utilitza realment en les funcions corporals normals (Benito i Miller, 1998) o la fracció d'element ingerit que es dissol, s'absorbeix al tracte gastrointestinal i arriba a la circulació sistèmica (Caussy, 2003).

Conèixer la BD és essencial per avaluar l'eficàcia dels nutrients i dels components bioactius. Depèn de la digestibilitat de l'aliment, de l'absorció del nutrient i de la capacitat de l'organisme per utilitzar-lo en les funcions metabòliques. Així, doncs, la BD d'un nutrient, en aquest cas un element mineral, és el resultat de tres etapes (Wienk et al., 1999):

- a) Digestibilitat i solubilitat de l'element en el tracte intestinal
- b) Absorció de l'element i transport en la circulació
- c) Incorporació des de la circulació a l'entitat funcional

En la primer etapa (a) els factors dietètics (aportació de l'element, forma química, solubilitat i altres components de la dieta amb els quals pot interaccionar) són els principals determinants de la BD per la influència que tenen en l'absorció. Mentre que en les dues últimes (b i c) són els factors fisiològics: l'edat, els possibles defectes genètics, els estats patològics, la flora intestinal i la capacitat individual d'adaptació a les aportacions de nutrients els que exerceixen una major influència en l'absorció i el metabolisme dels minerals. Resumint, la BD depèn del mateix nutrient, del tipus d'aliment, de la presència en el tracte intestinal d'altres components de l'aliment/dieta i de l'estat de la persona que el rep.

Pel que fa als medicaments, la Food and Drug Administration (FDA) dels EUA defineix la BD com “la velocitat i el grau amb què el principi actiu del medicament s'absorbeix i està disponible en el punt d'acció” (Shi i Le Margue, 2000). Aquesta definició també és vàlida per als compostos bioactius dels aliments la BD dels quals inclou la disponibilitat per a l'absorció, el metabolisme, la distribució als teixits i també la bioactivitat (BC).

La mesura de l'alliberament i de la bioactivitat (BC) d'un component dels aliments o d'un medicament en uns punts concrets de l'activitat biològica de l'organisme suscita problemes pràctics i ètics i per això, habitualment, la BD es defineix com la fracció de la dosi oral del compost original o dels seus metabòlits actius que arriba a la circulació sistèmica i es deixa de banda la BC. El resultat és que la BD es relaciona més amb la bioaccessibilitat (BA) i si bé ambdues (BD i BA) s'utilitzen indistintament, la biodisponibilitat (BD) també inclou la bioactivitat (BC).

La taula 1 mostra les definicions dels termes més usats en relació amb la utilització d'un nutrient que fa l'organisme.

La bioaccessibilitat (BA) es defineix com la fracció d'un compost que en el tracte gastrointestinal s'allibera de la matriu aliment i està disponible per a l'absorció intestinal (Benito i Miller, 1998) o la quantitat de nutrient ingerit que queda disponible per a l'absorció en el tracte intestinal després de la digestió (Hedren et al., 2002). La BA inclou una sèrie de fets que s'esdevenen durant la transformació digestiva dels aliments en components assimilables per a l'organisme, l'absorció en les cèl·lules de l'epiteli intestinal i el me-

tabolisme presistèmic (intestinal i hepàtic). La composició de l'aliment i les interaccions, positives o negatives, entre els components influeixen en la BA d'un determinat nutrient o compost bioactiu.

Taula 1. Definicions utilitzades amb relació a l'ús d'un nutrient ingerit (Parada i Aguilera, 2007)

Biodisponibilitat (BD)	Fracció del nutrient ingerit disponible per ser utilitzat en les funcions fisiològiques normals i per a l'emmagatzematge.
Bioconversió	Fracció de nutrient biodisponible que es converteix en forma activa
Bioeficàcia	Fracció de nutrient ingerit que té un efecte nutritiu
Bioaccessibilitat (BA)	Fracció que s'allibera de la matriu aliment i està disponible per a l'absorció intestinal (usualment es mesura per mètodes <i>in vitro</i>)
Bioequivalència (BE)	No hi ha cap diferència significativa en la taxa i el grau en què dos ingredients actius administrats a la mateixa dosi molar i en condicions similars, estan disponibles en el punt d'acció

BD i BA no són equivalents, habitualment la BD es mesura per determinació del contingut del compost al plasma (assaig *in vivo*) de manera que factors com la variabilitat individual, l'estat fisiològic, la dosi i la presència d'altres components de l'aliment entren en joc. Encara que tot el nutrient ingerit és potencialment bioaccessible, de fet gairebé cap nutrient es converteix totalment en una forma absorbible durant la digestió (Faulks i Southon, 2005).

També hi ha models experimentals que proporcionen dades de BD i una visió general de l'eficàcia del procés, però no permeten diferenciar entre la BD i la BA i l'assimilació.

La bioactivitat (BC) inclou esdeveniments relatius a la forma en què el compost bioactiu es transporta i arriba al teixit diana, com interacciona amb les biomolècules, el seu metabolisme o biotransformació, la síntesi d'un biomarcador i la resposta biològica. Les

mesures de BC es basen principalment en els fets que tenen lloc en la interacció entre el compost bioactiu i les biomolècules. El resultat d'aquesta interacció és un metabòlit, senyal o resposta que es continuarà modulant i amplificant fins a produir la resposta fisiològica sistèmica, en aquest cas un efecte beneficiós per a la salut. Les declaracions de salut (EU 1924/2006) en un aliment es basen en estudis de bioactivitat (BC).

Els estudis de BC d'un compost bioactiu impliquen conèixer prèviament la seva BA o sigui si el compost s'absorbeix tal qual o si es metabolitza, i s'han de fer amb la forma química en què s'absorbeix.

Conèixer la BD d'un nutrient o compost bioactiu concret és necessari per:

- Fixar les quantitats de nutrients a aportar per satisfer els requeriments, en especial quan l'absorció depèn de la forma química present i/o es modifica per la presència d'altres components de l'aliment/dieta.
- Seleccionar les millors fonts dietètiques d'un nutrient o component bioactiu.
- Preparar suplementos o complementos alimentosos útils per combatre les deficiències.
- Desenvolupar aliments funcionals. Conèixer la BD és un factor clau per a la proposta d'aliments o fórmules que al·leguin un benefici per a la salut derivat del contingut en compostos bioactius.

Sovint el pas dels requeriments fisiològics als dietètics exigeix fer canvis per tenir en compte els factors específics de la dieta d'un determinat país o regió i de les persones que hi viuen. El patró alimentari determina el tipus de dieta i o d'aliment, la forma química del nutrient, les interaccions entre nutrients i/o compostos orgànics i les tècniques habituals de preparació dels aliments, factors que influeixen en la BD. Pel que fa a l'individu, s'ha de diferenciar entre els factors intestinals i els sistèmics. La disminució de la secreció de suc gàstric i/o del factor intrínsec i les alteracions de la permeabilitat de la mucosa intestinal, són exemples de factors intestinals que influeixen en l'absorció d'alguns nutrients, però que sovint no s'han pres en consideració a l'hora d'establir els requeriments dietètics. Entre els factors sistèmics a considerar hi ha l'estat nutricional indi-

vidual, l'edat, el sexe, l'ètnia, el genotip i l'estat fisiològic (embaràs o lactació), així com les malalties cròniques o infeccioses agudes. Actualment hi ha grans diferències en les adaptacions que s'han fet per transformar els requeriments fisiològics en dietètics fins i tot en països amb patrons alimentaris similars (Gibson, 2007).

2.1. Influència de la preparació dels aliments en la BD dels components

En la majoria de casos, la BA i la BD d'un nutrient depenen de les propietats físiques de la matriu aliment que influeixen en l'eficiència física, enzimàtica i química del procés de digestió (Boyer i Liu, 2004).

La disrupció de la matriu i/o de la microestructura que es forma durant l'elaboració dels aliments influeix en l'alliberament, la transformació i la posterior absorció d'alguns nutrients en el tracte intestinal. Els canvis en la microestructura de l'aliment que es produeixen durant l'elaboració i la ingestió són importants per a les interaccions matriu-nutrient i l'efecte sobre la BD d'alguns nutrients seleccionats. Per aquest motiu, sovint els extractes de molècules bioactives i de microorganismes beneficiosos es protegeixen durant el trànsit intestinal mitjançant una encapsulació amb materials expressament seleccionats (Parada i Aguilera, 2007).

Les taules de composició dels aliments especifiquen els continguts de nutrients dels aliments, però no la fracció del nutrient ingerit que un cop absorbida queda disponible per al desenvolupament de l'activitat fisiològica. El coneixement exacte de la BD d'un nutrient/component bioactiu d'un aliment no és fàcil perquè en un mateix aliment pot variar per les condicions d'elaboració, la presència d'altres components amb els quals interacciona i que poden funcionar com a potenciadors o inhibidors, la formació de compostos de metabolització lenta, etc. En alguns nutrients s'ha vist que l'estat de la matriu alimentària quan es tracta d'aliments no processats o la microestructura en els processats, pot afavorir o per contra impedir la resposta nutricional *in vivo*. La microestructura de l'aliment pot influir en la captació de nutrients per les cèl·lules intestinals i, per tant, en la presència en el plasma. S'han assenyalat efectes de la matriu en la BD de proteïnes i polisacàrids, minerals i més recentment dels compostos fitoquímics (Parada i Aguilera, 2007).

La BD és un factor a tenir en compte quan s'avalua la qualitat d'una dieta pel que fa a micronutrients, en especial en dietes en què els vegetals són majoritaris. Per millorar la BD dels micronutrients d'aquest tipus de dietes s'han utilitzat diferents mètodes domèstics tradicionals de preparació i elaboració d'aliments que inclouen tractaments tèrmics, mecànics, remull, fermentació i germinació o obtenció de malt, amb l'objectiu d'incrementar l'accessibilitat fisicoquímica dels micronutrients, reduir el contingut d'antinutrients, per exemple, els fitats, o incrementar els dels compostos que la poden millorar. Per garantir un efecte positiu i significatiu sobre la BD pot caldre aplicar més d'una estratègia com ja s'ha demostrat en intervencions a llarg termini (Hotz i Gibson, 2007).

2.2. Mètodes per mesurar la biodisponibilitat (BD), la bioaccessibilitat (BA) i la bioactivitat (BC)

Per determinar la biodisponibilitat (BD) i/o la bioaccessibilitat (BA) dels nutrients s'utilitzen estudis *in vivo* (en humans o en animals) i assaigs *in vitro* simulats al laboratori.

Els mètodes *in vivo* proporcionen informació directa de la BD i s'han aplicat a una gran varietat d'aliments i nutrients. Habitualment, mesuren la resposta que es produeix quan un ésser humà o un animal ingereix un nutrient pur (natural o sintètic) i es compara amb la resposta que s'obté amb una dosi equivalent del nutrient procedent d'una font alimentària (Yeum i Russell, 2002). Els assaigs *in vivo* en humans podrien semblar la forma ideal de determinar la BA, però alguns tipus d'estudis no són assequibles per raons experimentals, els protocols rígids que s'han d'aplicar en estudis en animals i en humans i restriccions ètiques (van het Hof et al. 2000a).

Entre els assaigs *in vivo* hi ha els estudis de balanç en els quals la quantitat absorbida de nutrient, de compost bioactiu o dels seus metabòlits s'estima per diferència entre les quantitats ingerides i les excretades. Els estudis de balanç, però, no permeten visualitzar els efectes de les diferents etapes de la digestió i l'absorció sobre els nutrients o compostos bioactius dels aliments (Fernández-García et al., 2009).

També s'avaluen els canvis de continguts en els teixits, en concret en plasma, amb relació al temps (per exemple, durant el període postprandial). Aquestes mesures proporcionen tres paràmetres cinètics: l'àrea sota la corba (AUC), la concentració plasmàtica màxima (Cmax) i el temps (tmax) necessaris per assolir la Cmax. L'AUC és una mesura de la intensitat de l'absorció mentre que la Cmax i el tmax indiquen la taxa d'absorció (Heacock et al., 2004; Manach et al., 2005). Un altra forma d'avaluar la BA consisteix a mesurar la concentració plasmàtica del component durant un període de temps (dia o setmana) de consum continuat d'un aliment determinat (van het Hof et al., 1999; Richelle et al., 2002). En aquest cas, els paràmetres d'interès són: la Csat (valor en què la concentració es manté constant en el temps) i el tsat (temps necessari per assolir el Csat). Aquests mètodes s'han utilitzat en animals d'assaig i en humans per determinar l'absorció d'hidrats de carboni, minerals, vitamines, compostos fitoquímics, etc.

Entre els avantatges dels estudis *in vivo* hi ha el proporcionar mostres de mida suficient per estudiar la farmacocinètica i la possibilitat de seleccionar la mostra de poblacions diana. Els principals inconvenients són un alt grau de variabilitat interindividual que prové de diferències en l'estat fisiològic i la possible interacció entre el nutrient i altres components de la dieta. En els assaigs amb animals, els principals inconvenients són: un rendiment baix; l'avaluació global dels factors implicats en la BA; els dubtes sobre la importància que els resultats puguin tenir per als éssers humans tenint en compte les diferències en els requeriments, el metabolisme, la capacitat digestiva i la sensibilitat als factors dietètics; la manca de patrons de referència útils per comparar les dades procedents de diferents laboratoris; els cost elevat i els factors ètics. L'esforç que requereixen els estudis en humans, la seva complexitat i el cost han afavorit el desenvolupament de models animals i de mètodes *in vitro*, aquests darrers molt útils per al cribratge (Sandberg, 2005).

Els mètodes *in vitro* són ràpids, segurs i no tenen les restriccions ètiques dels assaigs *in vivo* raons per les quals són molt utilitzats. Els sistemes *in vitro* simulen les condicions fisiològiques i la seqüència d'esdeveniments que tenen lloc durant la digestió en el tracte gastrointestinal humà. En una primera etapa s'actua sobre l'aliment i es reproduïxen fins on és possible les condicions fisicoquímiques en què es desenvolupa la digestió en les tres zones del sistema di-

gestiu (boca, estómac i intestí). Les principals característiques del mètode gastrointestinal *in vitro* són la temperatura, l'agitació i la composició química i enzimàtica de la saliva i dels sucus gàstric, duodenal i biliar. Es consideren models estàtics o bioquímics els que no reproduïen els processos físics que tenen lloc *in vivo* (masticació, mescla, hidratació, peristaltisme). Els models dinàmics imiten els processos físics *in vivo* i hi inclouen variables com els canvis de viscositat dels digerits, la reducció de la mida de la partícula, la difusió i el repartiment dels nutrients.

El model de digestió gastrointestinal permet monitoritzar nutrients i compostos bioactius i veure si els afecten les condicions de la digestió (pH, enzims) o possibles interaccions amb d'altres components dels aliments (fibra, succedanis del sucres o del greix) que poden influir en l'eficiència de la digestió. El resultat és un digerit o preparació intestinal. Per analitzar el contingut lipofílic que s'ha incorporat efectivament a les micel·les, es pot aïllar la fracció micel·lar per ultracentrifugació.

La segona etapa consisteix a determinar la quantitat de nutrient o de compost bioactiu del digerit assimilat per la mucosa intestinal. En aquest punt hi ha diferents opcions disponibles incloent-hi mètodes *in vivo* (perfusió intestinal), tècniques *ex vivo* i models amb cultius cel·lulars. Aquests es proposaren per primer cop a la dècada dels 90 del segle passat per estudiar el pas dels principis actius dels medicaments a través de la mucosa intestinal. Es fa un cultiu d'una monocapa de cèl·lules sobre un filtre que separa dues plaques amb concavitats. A la capa superior s'hi deposita la dissolució donadora (conté una fracció de digerit) i a la inferior la dissolució acceptora, en aquesta es determina el nutrient o compost bioactiu per avaluar l'eficàcia de l'absorció. Per simular la mucosa intestinal s'utilitzen diferents línies cel·lulars que mostren característiques particulars pel que fa al grau d'expressió dels transportadors, adequació per a la transfecció, temps i manteniment del cultiu.

El model amb cèl·lules Caco-2 s'ha utilitzat per avaluar el transport actiu d'àcids biliars, vitamines, aminoàcids, minerals i compostos fitoquímics. Els models cel·lulars tenen alguns inconvenients i limitacions, principalment des del punt de vista analític perquè requereixen tècniques sensibles i específiques per evitar les possibles interferències provocades pel mateix cultiu i el mitjà de transport

(Verwei et al., 2005; Parada et al., 2007, Fernández-García et al., 2009). Un problema important encara per resoldre és la transformació en el tracte intestinal (per exemple, pels bacteris del còlon) dels nutrients en metabòlits, forma activa en què s'absorbeixen, és a dir la biodisponible.

Els assaigs *in vitro* ofereixen els avantatges següents: bon rendiment quan s'utilitzen com a eina de cribratge, proporcionen informació sobre l'eficiència de cada una de les etapes de la digestió/fase d'absorció i mecanismes de transport, permeten un millor control de les variables d'assaig, validació i estandardització amb materials de referència, cost, automatització i miniaturització. Entre els inconvenients cal esmentar: la necessitat d'una validació amb dades de BD procedents d'assaigs *in vivo*, en especial quan es vol demostrar l'eficàcia de la formulació dels aliments per a la població diana, la impossibilitat de reproduir de forma completa la situació dinàmica de l'intestí en models bioquímics que tampoc tenen en compte l'efecte de la microflora intestinal ni del metabolisme hepàtic (Fernández-García et al., 2009). Són de gran utilitat per a generar idees i desenvolupar hipòtesis, però els resultats que proporcionen tenen limitacions i són insuficients per adoptar decisions relatives a les polítiques d'enriquiment dels aliments, la selecció de varietats vegetals de cultius o el desenvolupament de productes nous en la indústria alimentària, que finalment requereixen estudis en humans (Fairweather-Tait et al., 2005).

Els estudis *in vitro* poden servir per establir els efectes i la importància dels diferents factors en la BA del compost bioactiu i proporcionar una anàlisi a fons de la influència de la composició de la matriu aliment en el procés de digestió. El punt fort dels assaigs *in vitro* radica en la coherència entre els resultats obtinguts i els que provenen dels assaigs *in vivo*.

La majoria dels protocols gastrointestinals *in vitro* utilitzats per estimar la bioaccessibilitat (BA) dels elements minerals es basen en el desenvolupat per Miller et al. (1981) que mesura la dialitzabilitat de l'element després d'una digestió gastrointestinal simulada amb pepsina en l'etapa gàstrica seguida d'una fase intestinal amb pancreatina i sals biliars. El procediment s'ha aplicat a suplementes minerals, aliments, mescles d'aliments i àpats complets. En un estudi interlaboratori associat al projecte FLAIR es va comprovar que

l'ajust del pH és un dels paràmetres crítics de la digestió intestinal (Luten et al., 1996).

La incorporació al model gastrointestinal de cèl·lules Caco-2, cultivades en un suport sòlid o microporós, permet avaluar la solubilitat, la dialitzabilitat (BA) i la captació per les cèl·lules intestinals. Les cèl·lules Caco-2 es diferencien de forma espontània, estructural i funcional de manera que es poden assimilar als enteròcits madurs (Hidalgo et al., 1989) i permeten estimar l'absorció mineral mesurant la captació i el transport cel·lular (Ekmekcioglu, 2002). El cost baix i l'àmplia acceptació de la línia cel·lular Caco-2 fan d'aquest model una alternativa atractiva en els estudis en animals i una eina valuosa a emprar de forma conjunta amb els assaigs en humans. Tanmateix, malgrat l'aparent senzillesa l'obtenció de bons resultats en els assaigs interlaboratori depèn de l'experiència dels tècnics i de la disponibilitat d'instal·lacions de cultius cel·lulars que compleixin les condicions adients (Sharp, 2005).

La figura 1 mostra l'esquema d'un model *in vitro* que inclou la digestió gastrointestinal simulada i la captació i transport per cèl·lules Caco-2.

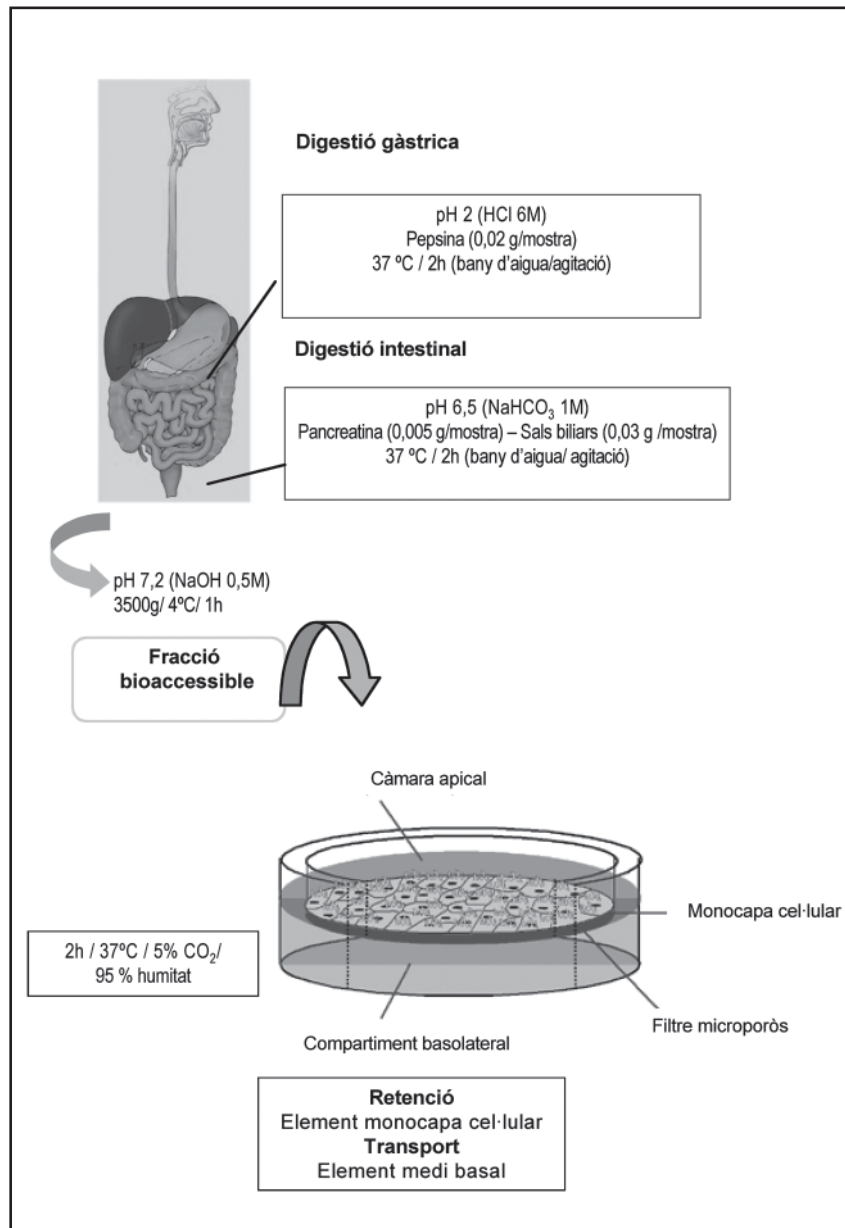


Figura 1. Esquema d'un model in vitro que inclou una digestió gastrointestinal simulada i la captació i transport per les cèl·lules Caco-2

3. Elements minoritaris essencials

Les deficiències d'elements minoritaris estan àmpliament repartides per tot el món. Els principals grups de risc són les dones embarassades, els lactants, la gent gran i les persones obesas de qualsevol edat (García et al., 2009).

Els principals responsables d'aquestes deficiències són els continguts baixos del micronutrient deficitari en els aliments bàsics de la dieta, les interaccions complexes entre els micronutrients i altres components de la dieta que influeixen de forma negativa en la BD i les necessitats incrementades d'aquests nutrients en determinades èpoques de la vida.

La BD baixa del ferro en les dietes a base de cereals i llegum contribueix de forma significativa a la prevalença de la deficiència nutricional d'aquest element en els països en desenvolupament.

Els estudis de bioaccessibilitat (BA) i de biodisponibilitat (BD) tenen interès pel que fa a ferro i zinc perquè l'absorció és baixa i es modifica per altres components de la dieta, factors que dificulten arribar als requeriments amb conseqüències importants per al creixement i el desenvolupament.

Un bon coneixement de la BD del ferro i del zinc permetrà seleccionar millor les fonts dietètiques i trobar les formes més adequades per enriquir els aliments o utilitzar-los com a suplement.

3.1. Ferro

El ferro és un nutrient minoritari essencial per als éssers humans necessari per a la funció eritropoètica, el metabolisme oxidatiu i les respostes cel·lulars immunitàries. Les seves principals funcions fisiològiques deriven de la presència de ferro a les estructures de la mioglobina i l'hemoglobina i de la participació que tenen en els processos de transferència d'electrons a la cadena respiratòria.

El ferro es diferencia dels altres minerals en el fet que el seu balanç en l'organisme queda regulat per l'absorció i hi està tan estretament lligat que hi ha un equilibri entre el ferro dietètic que s'absorbeix (1-2 mg/ dia) i les pèrdues corporals. Això fa que el *turnover* del

ferro sigui essencial per satisfer els requeriments de l'eritropoesi (20- 30 mg/dia). Un augment dels requeriments, una disminució de les aportacions dietètiques i pèrdues incrementades de sang poden provocar deficiència de ferro. Estudis recents expliquen com l'organisme regula les proteïnes intestinals i hepàtiques claus en l'absorció i el metabolisme del ferro en resposta a variacions en l'estat nutricional (Muñoz et al., 2009; Hurrell i Egli, 2010).

La deficiència de ferro i l'anèmia que en resulta són probablement les de més àmplia distribució mundial ja que es donen tant en països desenvolupats com en els que estan en vies de desenvolupament. Les dones en edat fèrtil, les embarassades o lactants i els nens petits són els grups de població més afectats, especialment en aquests últims, però també a Europa. Factors com el tipus de contraceptius, la donació de sang o les pèrdues patològiques menors (hemorroides, sagnat ginecològic) augmenten considerablement les dificultats per cobrir els requeriments de ferro. Malgrat que en diferents etapes de la vida només són necessaris d'1 a 3 mg de ferro absorbit al dia, sovint les aportacions dietètiques són insuficients per manca d'aliments rics en ferro amb bona BD a les dietes, l'efecte derivat de la presència d'inhibidors i la falta de promotors de l'absorció. Les dones, en especial les adolescents amb dietes de valor energètic baix, els vegetarians, en especial els vegetarians estrictes tenen un risc elevat de deficiència de ferro (Herberg et al., 2001; Gautam et al., 2008).

Els lactants que presenten deficiència de ferro durant els primers 6-12 mesos de vida tenen grans probabilitats de patir efectes persistents de la deficiència en l'edat adulta, efectes com retard significatiu en el desenvolupament del sistema nerviós central i modificacions de la morfologia i la neuroquímica. Segons l'estadi de desenvolupament en què es produeix la deficiència de ferro, és possible o no capgirar els efectes adversos, però l'èxit de la repleció sembla dependre de la duració i del moment en què es produeix la deficiència. Actualment, es comencen a entendre els mecanismes d'acumulació de ferro al cervell i com es redistribueix. Les dades que hi ha en lactants humans indiquen una alteració de la mielinització de la matèria blanca, canvis en el metabolisme de la monoamina en l'striatum i en la funció del hipocamp. Els estudis fets fins ara assenyalen la gestació i les primeres fases de la lactació com els períodes possiblement més crítics, en els quals la deficiència de ferro causaria les lesions més persistents (Beard, 2008).

La deficiència de ferro està considerada un dels principals factors de discapacitat i mort arreu del món. S'estima que afecta dos bilions de persones i es produeix quan no és possible satisfer els requeriments fisiològics amb el ferro dietètic. Quan les dietes són monòtones i els aliments majoritaris són els vegetals, circumstància que es dona als països en vies de desenvolupament, la BD del ferro és baixa perquè es tracta de ferro no hemo i les conseqüències són una prevalença alta de la deficiència amb costos sanitaris i econòmics elevats. Hi ha problemes en l'embaràs, el rendiment a l'escola és pobre i la productivitat laboral és baixa. La millor forma de lluitar contra aquesta situació és l'ús de suplementes de ferro especialment destinats als grups de població en risc, enriquir els aliments en ferro o ambdues coses.

Les fórmules i els cereals enriquits en ferro per a lactants, l'enriquiment en ferro d'aliments bàsics en diferents països i l'ús de suplementes de ferro durant l'embaràs han contribuït a disminuir la prevalença d'anèmia per deficiència d'aquest element. La deficiència de ferro es pot prevenir i controlar mitjançant: l'assessorament individual o familiar sobre una alimentació adequada en ferro durant la infància i més endavant, l'ús de suplementes de ferro durant l'embaràs, el cribatge de les persones en funció del risc de patir deficiència de ferro i el tractament i el seguiment de les persones en risc. Tot això contribuirà a reduir les manifestacions de deficiència de ferro i a millorar la salut pública. Per altra banda, les proves que relacionen l'estat nutricional en ferro amb el risc de malaltia cardiovascular encara no justifiquen canvis ni en l'enriquiment dels aliments o ni en la pràctica mèdica si es pren en consideració que els beneficis de garantir una ingestió adequada de ferro durant el creixement i el desenvolupament estan ben establerts (Hercberg et al., 2001).

Pel que fa a l'enriquiment, els problemes tecnològics limiten el nombre de compostos de ferro amb bona BD que és possible utilitzar. No obstant això, hi ha estudis que mostren l'eficàcia potencial d'aquest enriquiment en la prevenció i la correcció de la deficiència nutricional. Una actuació eficaç requereix una avaluació prèvia de l'estat nutricional en ferro per valorar la necessitat d'enriquir els aliments i la monitorització dels resultats després de la intervenció. Altres possibilitats prometedores per millorar la qualitat nutricional del ferro dietètic són augmentar els continguts dels factors die-

tètics que n'afavoreixen l'absorció i/o disminuir el dels que la inhibeixen mitjançant cultius vegetals seleccionats i enginyeria genètica (Zimmermann i Hurrell, 2007).

3.1.1. Factors dietètics que influeixen en la BD del ferro

Un dels principals factors responsables de la deficiència és la baixa BD del ferro dietètic en tractar-se d'un procés complex en el qual influeixen el contingut i l'espècie química de l'element i la presència d'altres components del mateix aliment o de la dieta, que poden actuar de forma positiva (àcid ascòrbic, la carn, el peix i el pollastre) o negativa (calci i components dels vegetals, te i cafè [polifenols i fitats]) sobre l'absorció (Jyothi Lakshmi et al., 2006).

La modificació de la dieta per augmentar els continguts dels components que afavoreixen l'absorció de ferro d'àpats amb BD baixa és una estratègia eficaç per combatre la deficiència nutricional.

Formes de ferro. Els aliments contenen diferents formes de ferro, bàsicament ferro hemo i ferro no hemo que es diferencien en la BD. Els aliments d'origen animal contenen les dues formes mentre que en els vegetals predomina el ferro no hemo de menor BD i a més resulta més afectada pels factors dietètics que influeixen en l'absorció, si bé com es veurà a continuació alguns vegetals tenen compostos de ferro amb bona BD.

Aquest és el cas de la ferritina que es troba en petites quantitats als vegetals, però amb la possibilitat d'augmentar-ne els continguts per tècniques de fitomillora dels cultius vegetals o inserint el gen de la ferritina en aliments bàsics. Atès que cada molècula de ferritina pot fixar milers d'àtoms de ferro, aquest podria ser un mètode sostenible per augmentar-ne el contingut als vegetals. A la ferritina, el ferro està a l'interior d'una nanogàbia de proteïna estable que el protegeix contra els agents quelants (fitats i tanins) de la dieta i d'aquesta forma es pot absorbir d'aliments com llegum ric en ferro però que conté fitats, possiblement per un mecanisme diferent a l'utilitzat per transportar complexos de ferro de baix pes molecular (Murray-Kolb et al., 2003; Theil, 2004). La BD del ferro de la ferritina s'ha avaluat amb sistemes *in vitro* (cèl·lules Caco-2) i en humans (ferritina marcada amb isòtops radioactius i recompte

corporal). S'ha vist que els factors dietètics com l'àcid ascòrbic, el fitat i el calci, que influeixen en l'absorció del ferro, tenen un efecte limitat en la captació del ferro de la ferritina intacta per cèl·lules Caco-2, circumstància que indicaria que el ferro de la ferritina i el ferro no hemo s'absorbeixen per mecanismes diferents. En els sistemes de digestió *in vitro* s'observa la resistència de la ferritina als enzims proteolítics i una unió saturable de la ferritina a les cèl·lules Caco-2, amb una cinètica característica d'un procés en què intervé un receptor. En els humans, el ferro de la ferritina i del sulfat ferrós procedents d'àpats s'absorbeixen igual de bé. Atesa la bona absorció del ferro de la fitoferritina, aquesta seria útil per enriquir aliments bàsics destinats a poblacions deficitàries en aquest element (Lönnerdal et al., 2006, 2007, 2009; Jin et al., 2009).

Potenciadors. Àcid ascòrbic. La influència positiva de l'àcid ascòrbic sobre l'absorció del ferro no hemo es coneix des fa anys. Nombrosos estudis la confirmen. A tall d'exemple es comenta l'avaluació dels efectes de continguts variables d'àcid ascòrbic (potenciador) i d'àcid tànnic (inhibidor) sobre l'absorció de ferro en humans amb un sistema *in vitro*, que inclou una digestió gastrointestinal simulada, la captació del ferro per cèl·lules Caco-2 i la síntesi de ferritina com a indicador de l'absorció.

Per avaluar amb quina fidelitat un sistema d'aquest tipus reflecteix la resposta humana, preparen àpats iguals als utilitzats en l'estudi dels efectes de continguts variables d'àcid ascòrbic i tànnic sobre l'absorció de ferro en humans i determinen les taxes d'absorció de l'element (absorció del ferro d'àpats que contenen àcid ascòrbic o tànnic, dividides per l'absorció de ferro d'àpats idèntics, lliures de potenciadors i inhibidors). Els patrons de resposta dels efectes de l'àcid ascòrbic i tànnic són similars en el sistema *in vitro* i en l'assaig en humans, l'àcid ascòrbic i l'àcid tànnic augmenten i disminueixen respectivament les taxes d'absorció de ferro de forma dosiddependent. En conseqüència, el model *in vitro* prediu de forma exacta la resposta de l'ésser humà a la presència dels àcids ascòrbic i tànnic en els àpats estudiats, resultats que confirmen estudis posteriors (Yun et al., 2004). Un model similar s'ha utilitzat per avaluar la disponibilitat del ferro de mescles d'aliments crus i cuinats, en concret l'efecte sobre l'expressió de ferritina per les cèl·lules d'una mescla d'aliments amb continguts alts d'àcid ascòrbic i d'ou cuit. L'ou per si sol no augmenta la síntesi de ferritina, dada que indicaria la man-

ca de disponibilitat del ferro que conté per ser captat per les cèl·lules, però si s'afegeix suc de taronja o amanida (enciam, tomàquet i pebrot vermell) en una relació similar a la que es produeix als àpats, el contingut de ferritina augmenta de forma significativa, més amb l'amanida que amb el suc de taronja. De nou es confirma l'efecte positiu dels aliments rics en àcid ascòrbic sobre l'absorció del ferro de l'ou (Thompson et al., 2010).

Prebiòtics. Els prebiòtics són oligosacàrids no digeribles seleccionats per estimular el creixement i l'activitat de bacteris específics del còlon beneficiosos per a la salut. S'ha assenyalat que prebiòtics com la inulina i els fructooligosacàrids presents en una gran varietat d'aliments vegetals afavoreixen l'absorció del ferro. Aquesta hipòtesi és versemblant des d'un punt de vista fisiològic perquè la fermentació dels prebiòtics per la flora del còlon pot disminuir el pH del contingut luminal, afavorir la reducció del Fe(III) a Fe(II), estimular la proliferació de les cèl·lules epitelials per augmentar la superfície d'absorció i potencialment estimular l'expressió de les proteïnes de transport mineral de les cèl·lules epitelials. Malgrat això, no hi ha dades sòlides de les propietats potenciadores de l'absorció del ferro per acció dels prebiòtics i els mecanismes implicats es coneixen poc. La confirmació de la hipòtesi del còlon com a punt important per a l'absorció del ferro en resposta a l'estimulació dels prebiòtics i l'efecte sobre l'estat en ferro de persones deficitàries d'una exposició a llarg termini en aquests requereix estudis addicionals (Yeung et al., 2005).

Proteïnes de carn. El teixit muscular (carn) incrementa l'absorció del ferro no hemo per un efecte en el qual participen components proteics i no proteics. L'explicació més plausible és que els pèptids de les proteïnes musculars parcialment digerides fixen el ferro per unió a cisteïna i histidina i formen complexos solubles disponibles per a l'absorció. L'efecte carn és més aparent en els àpats que contenen cereals i llegum perquè el ferro forma complexos amb els pèptids i evita així la fixació del ferro als fitats i compostos fenòlics. Possiblement, l'efecte carn es degui a pèptids de baix pes molecular que s'alliberen durant la digestió del teixit muscular. El component porfirina del ferro hemo no sembla afectar l'absorció del ferro no hemo. No obstant això, resultats obtinguts amb extractes de proteïna de pollastre indiquen que components no proteics del teixit muscular poden influir en l'absorció del ferro. També s'ha assenya-

lat l'efecte dels fosfolípids, així l' -glicerofosfocolina compost hidrosoluble, que no modifica les característiques organolèptiques dels aliments als quals s'afegeix i sembla relativament estable podria ser útil en les estratègies per millorar la BD del ferro no hemo (Armah et al., 2008).

Un estudi, amb isòtops estables, en nens de 4 a 8 anys va mesurar per tècniques multirastreig, l'absorció de ferro i de zinc d'àpats que tan sols es diferenciaven en la font proteica (carn de bou o concentrat de proteïna de soja pobre en fitats). L'absorció de ferro es va estimar mesurant-ne la incorporació als eritròcits (als 14 dies) i la de zinc per la relació entre l'excreció oral i intravenosa de marcadors de zinc (a les 48 h de l'administració). L'absorció de ferro i de zinc és significativament més alta per a la carn de bou que per a l'aïllat proteic de soja. La carn de bou augmenta l'absorció del ferro no hemo i del zinc inorgànic en relació a la proteïna de soja. Cal doncs tenir en compte l'efecte carn quan s'elaboren dietes per a persones deficitàries en ferro (Etcheverry et al., 2006).

Els glicosaminoglicans, components carbohidrat del teixit conjuntiu present entre les fibres musculars, tenen cadenes laterals amb grups sulfat i carboxílic que poden fixar ferro (Hurrell et al., 2006). Últimament s'ha vist que glicosaminoglicans com el condroitin/dermatan amb un grau de sulfatació alt, procedents d'un extracte purificat d'eglefí cuit afavoreixen la captació de ferro per les cèl·lules Caco-2. La síntesi de ferritina obtinguda amb Fe(III) es multiplica per 1,8 quan s'utilitzen glicosaminoglicans. La confirmació d'aquests resultats per assaigs *in vivo* contribuirà a millorar les estratègies d'intervenció nutricional (Laparra et al., 2009).

Pèptids lactis. S'ha demostrat que determinats pèptids alliberats durant la digestió *in vitro* de les proteïnes de la llet augmenten l'absorció de ferro, però queda per avaluar quina és la importància d'aquest increment des un punt de vista nutricional (Argyri et al., 2007).

Inhibidors. Zinc. Pel fet que les deficiències nutricionals de ferro i de zinc estan entre les més comunes arreu del món, una de les estratègies més usuals per prevenir-les és enriquir els aliments amb els dos elements de forma simultània, amb el risc que es produeixi un

efecte inhibidor del zinc sobre l'absorció del ferro ateses les potencials interaccions negatives entre ferro i zinc.

En un estudi de l'efecte del zinc (dosi/resposta) sobre la BD del ferro, administrats en dissolució aquosa a dones adultes sanes en el qual la BD del ferro s'avalua mesurant la incorporació de ^{55}Fe o ^{59}Fe als eritròcits (als 14 dies), no s'observen efectes significatius del zinc sobre l'absorció de Fe quan les relacions molars entre zinc i ferro no són superiors a 2:1. Relacions zinc:ferro més altes (5:1,10:1 i 20:1) inhibeixen de forma significativa (28-40%) l'absorció de ferro de forma dosiddependent. La durada de l'efecte inhibidor, que només s'observa en l'administració simultània dels dos elements i depèn dels continguts totals dels dos minerals al lumen intestinal, es inferior als 30 minuts. Aquestes observacions s'han de tenir en compte en els programes de suplementació/enriquiment simultani amb els dos minerals (Olivares et al., 2007; Olivares et al., 2007a; Olivares et al., 2007b).

Fitats. En les dietes a base de vegetals, els fitats (mioinositol hexakis fosfat) són els principals inhibidors de l'absorció de ferro. L'efecte depèn del contingut de fitats, comença a concentracions molt baixes (2-10mg/ àpat) i de la relació molar entre el fitat i el ferro. Per una millora significativa de l'absorció de ferro de cereals o d'àpats a base de llegums que no contenen potenciadors, la relació molar entre fitats i ferro ha de ser inferior a 1:1 o preferiblement a 0,4:1. Mentre que si les dietes són variades i contenen potenciadors (carn, vegetals o àcid ascòrbic) una relació inferior a 6:1 és suficient. El processos d'elaboració dels aliments que afavoreixen la defosforilació dels fitats poden contribuir a una millora significativa de l'absorció de ferro (Hurrell i Egli, 2010).

Polifenols. Els polifenols formen complexos insolubles amb el ferro i n'inhibeixen l'absorció. Atès que el te és una font de polifenols de consum habitual en moltes poblacions, s'ha estudiat l'efecte que pot tenir en l'absorció del ferro procedent de menús que contenen potenciadors i inhibidors en quantitats variades. Es comprova que quan l'aportació de potenciadors (àcid ascòrbic, carn, peix, pollastre) és suficient, com passa en les dietes de la majoria de països industrialitzats, la inhibició es neutralitza, fins i tot per ingestes elevades de te. Malgrat això, l'absorció de ferro pot ser un problema si les ingestes de ferro hemo i de potenciadors de l'absorció de ferro

no hemo són baixes i les d'inhibidors són altes, perquè encara que la depleció dels dipòsits n'augmenti l'absorció, l'increment no és suficient per compensar els efectes inhibidors de dietes poc adequades. En aquest cas es recomana beure te fora dels àpats i que aquests continguin àcid ascòrbic i/o carn, peix i pollastre (Zijp et al., 2000).

Els suc de fruita són begudes nutritives i agradables de prendre per a petits i grans que contenen àcid ascòrbic potenciador de l'absorció del ferro no hemo, però també polifenols inhibidors. Els suc de pera, poma, aranja, taronja i raïm blanc augmenten de forma significativa la BD del ferro procedent de clorur fèrric. Aquestes fruites també milloren la BD del ferro dels cereals per a lactants. Mentre que els suc de raïm negre i de pruna tenen un potent efecte inhibidor sobre la BD del ferro que s'atribueix als continguts elevats de compostos polifenòlics que els fixen i impedeixen l'absorció de ferro soluble. Aquests inhibidors en trobar-se en un excés molar en proporció als continguts d'àcid ascòrbic i de ferro del digerit semblen contrarestar els efectes potenciadors de l'àcid ascòrbic. Per tant, per aconseguir una absorció òptima de ferro s'ha d'evitar el consum de suc de raïm negre i de pruna o si més no, variar els tipus de suc que s'ingereixen. Aquests suc, inhibidors efectius de l'absorció de ferro, són útils a les persones que hagin de limitar-la (per exemple, els que pateixen hemocromatosi). (Boato et al., 2002).

3.1.2. Fonts de ferro per enriquir els aliments o per utilitzar com a suplement

L'UNICEF estima que la deficiència de ferro afecta la meitat dels nens dels països en desenvolupament i mina la salut de 500 milions de dones en edat fèrtil. L'enriquiment dels aliments és la forma més habitual de combatre aquesta deficiència en el països no desenvolupats, malgrat la manca d'estudis que demostrin efectes significatius sobre l'estat nutricional de ferro com a resultat de l'addició a dietes amb BD baixa.

Per assolir l'èxit en les intervencions cal estudiar de quina manera l'enriquiment amb ferro i les modificacions de la dieta influeixen en l'absorció i en les taxes de recanvi dels dipòsits d'aquest en l'organisme.

Per predir l'absorció de ferro i els efectes de l'addició a la dieta i de les modificacions d'aquesta i poder ajustar les ingestes de ferro tenint en compte els efectes de potenciadors (àcid ascòrbic, carn, peix i pollastre) i inhibidors (fitats, polifenols i calci) s'han proposat diferents algoritmes que incorporen les dades dels àpats i els coneixements actuals sobre l'absorció de ferro. Un d'aquests algoritmes, robust i universal és útil per estimar la quantitat de ferro disponible per a l'absorció al tracte intestinal i aplicable a grans cohorts (Rickard et al., 2009).

En un dels grups de risc, dones en edat fèrtil amb dipòsits de ferro deplecionats, però hemoglobínemies normals, s'ha calculat l'absorció de ferro i la taxa de recanvi dels dipòsits per a nou dietes que representen un ampli interval de continguts de ferro i de BD. S'observa que quan la BD del ferro de la dieta és baixa, l'addició com a mesura única no té pràcticament cap efecte sobre l'estat nutricional. Mentre que si la dieta es modifica i es produeix un canvi modest en la BD i s'enriqueix en ferro (6 mg/dia) els dipòsits de ferro augmenten (d'un 40 a un 70%). A més d'enriquir amb ferro cal doncs modificar la dieta (Hoppe et al., 2008).

Actualment, les estratègies més comunes per combatre l'anèmia per deficiència de ferro inclouen l'ús de les seves sals en forma de suplementos o per enriquir els aliments. No obstant això s'han de tenir en compte les possibles conseqüències negatives i els efectes secundaris que l'enriquiment amb ferro pot tenir per a l'organisme i que poden obligar a desenvolupar vies alternatives (Theil, 2004). L'enriquiment dels aliments amb ferro també planteja problemes a la indústria alimentària perquè l'addició pot alterar el color, el sabor i la vida útil de l'aliment. Per preu i facilitat d'obtenció, les fonts més utilitzades són les de ferro no hemo malgrat la baixa BD del ferro no hemo i que l'addició pot modificar les característiques organolèptiques de l'aliment. El ferro hemo s'ha utilitzat poc perquè és car, se'n necessiten quantitats elevades, l'hemoglobina o els seus extractes tenen una coloració intensa i l'origen animal en limita el consum en gran part del món.

Ferro elemental. El ferro metàl·lic en pols és una de les formes més utilitzades per enriquir els aliments bàsics. La seva BD varia àmpliament en funció de l'origen. En algunes pólvores la BD del ferro podria ser massa baixa per tenir un impacte significatiu en l'estat en

ferro, circumstància que ha obligat a estudiar la millor manera de fer un cribratge útil per predir si el mètode d'obtenció influeix en la BD i per identificar quins productes poden, potencialment, millorar l'estat nutricional de ferro. De l'estudi de nou pólvores comercials de ferro classificades segons el procés d'obtenció (carbonil, electro-lític, H-reduït, CO-reduït i altres reduït) a les quals s'apliquen cinc procediments de cribratge seleccionats per pronosticar la BD del ferro en humans es desprèn que en condicions estandarditzades, la taxa de dissolució en HCl 0,1M és bona predictora de la BD potencial i la forma més senzilla de cribratge per predir i monitoritzar la BD del ferro de les pólvores comercials. Els valors més alts de BD corresponen a algunes però no a totes les pólvores de ferro carbonil o electrolític, les de ferro reduït proporcionen els valors menors i més variables. Així doncs, la BD del ferro de les pólvores comercials utilitzades en l'enriquiment dels aliments en el moment de l'estudi mostra una variabilitat significativa relacionada en part amb el mètode d'obtenció del ferro. La BD d'algunes pólvores de ferro carbonil o electrolític pot ser adequada per a l'enriquiment efectiu en ferro, però és poc probable que les pólvores de ferro reduït estudiades en les quantitats que habitualment s'utilitzen per enriquir els aliments tinguin un impacte adequat sobre l'estat nutricional de ferro, dada que confirma la necessitat d'una avaluació curosa de les pólvores a utilitzar en l'enriquiment (Lynch i Bothwell, 2007).

Pirofosfat fèrric soluble. S'han estudiat i comparat els efectes del pH, de potenciadors i inhibidors seleccionats i de matrius alimentàries sobre la BD del ferro del pirofosfat fèrric soluble en comparació amb d'altres compostos de ferro utilitzant un model *in vitro* que inclou un cultiu de cèl·lules Caco-2, en combinació o no amb una digestió simulada i la formació de ferritina com a indicador. La síntesi de ferritina més elevada s'aconsegueix amb el pirofosfat fèrric soluble. L'exposició a pH 2 seguida d'un augment de pH a 7 redueix de forma important la BD del sulfat ferrós mentre que té un efecte petit sobre la BD del pirofosfat fèrric soluble i del NaFeEDTA.

També s'ha estudiat l'efecte dels potenciadors (àcid ascòrbic, cisteïna i citrat), els dos primers augmenten la síntesi ferritina mentre que l'efecte del citrat és nul. Les addicions d'inhibidors [àcid fítinic (10:1) i àcid tànnic (1:1)] disminueixen la BD del ferro del pirofosfat fèrric soluble en un 91 i un 99%, respectivament. La incorporació de pirofosfat fèrric soluble a l'arròs té un fort efecte negatiu sobre

la BD del ferro que reverteix en part per acció de l'àcid ascòrbic. Tot això indicaria que els factors dietètics que potencien o inhibeixen la BD del ferro de diferents fonts també ho fan en el pirofosfat fèrric soluble, si bé la magnitud dels efectes dels inhibidors sembla que és més petita per al ferro d'aquesta sal que per al sulfat ferrós i el clorur fèrric, és per això que el pirofosfat fèrric soluble es considera una font prometedora de ferro, útil com a suplement o per enriquir els aliments (Zhu et al., 2009).

NaFeEDTA. L'àcid fitínic, component dels cereals i de la soja, és un potent inhibidor de l'absorció del ferro intrínsec o afegit als aliments. El seu efecte es pot contrarestar amb àcid ascòrbic o utilitzant un compost en el qual el ferro estigui protegit, com per exemple el NaFeEDTA.

El panel científic de l'EFSA d'additius alimentaris i fonts de nutrients addicionats als aliments (ANS) declara segur l'ús en les quantitats proposades del Fe(III)NaEDTA en: els suplementos alimentosos, PARNUTS (terme de la EU per designar aliments preparats amb finalitats nutricionals especials, que també es coneixen com aliments dietètics) i aliments enriquits, sempre que l'exposició a EDTA no superi els 1,9mg/kg pc/dia. La BD del Fe(III) d'aquest compost és de dues a tres vegades més alta que la corresponent al sulfat ferrós, i la seva incorporació a l'hemoglobina és eficient. Per altra banda, el grup d'experts en vitamines i minerals del Regne Unit estableix, únicament com a guia, que la ingesta d'un suplement de ferro d'aproximadament 17 mg/dia no es preveu que provoqui efectes adversos en la majoria de persones. Per la seva banda, el panel científic de l'EFSA estima per al Fe(III)NaEDTA un NOAEL (nivell en què no s'observen efectes adversos) de 250mg/kg pc/dia, basant-se en dos estudis en rates i indica que segons estudis previs no s'han observat efectes en animals ni humans del Fe(III)NaEDTA sobre l'absorció i el metabolisme de zinc, coure, calci, manganès. A partir d'estudis rellevants d'altres sals d'EDTA, conclouen que el Fe(III)NaEDTA no ha de ser motiu de preocupació pel que fa a la carcinogenicitat (EFSA, 2010).

L'avaluació de l'eficàcia d'aquest compost afegit a un producte a base de blat i soja destinat a l'alimentació complementària dels nens, mitjançant un estudi amb isòtops estables de disseny creuat en lactants, mostra que l'ús de NaFeEDTA no proporciona cap be-

nefici adicional si es compara amb la combinació d'un ferro de BD alta (sulfat ferrós) i àcid ascòrbic, dada que confirma l'interès de modificar la composició de l'aliment a més d'enriquir-lo (Davidson et al., 2005).

Clorofil·lina NaFe. Compostos de ferro d'origen vegetal d'estructura similar a la del ferro hemo poden augmentar la BD del mineral i ser útils per enriquir els aliments. La clorofil·lina NaFe procedent de les móres de moreres és un derivat hidrosoluble semisintètic de la clorofil·la en el qual el magnesi de l'anell porfirina s'ha substituït per ferro. Els resultats de l'avaluació en un model *in vitro* que inclou cèl·lules Caco-2 mostra una BD similar a la del ferro hemo, la seva estabilitat en les condicions gastrointestinals simulades i la capacitat d'alliberar ferro biodisponible. Els possibles inconvenients són l'efecte de la matriu alimentària, en especial la del calci que actua com a inhibidor i la coloració verda intensa de la clorofil·lina NaFe que modifica de forma espectacular el color de l'aliment al qual s'afegeix. Es podria considerar l'addició de clorofil·lina NaFe a aliments de color verd com els festucs o els kiwis. De nou cal confirmar els resultats amb assaigs en humans (Miret et al., 2010).

Com a alternativa a l'ús de diferents sals de ferro s'han emprat formes de preparació com l'encapsulació i els materials nanoestructurats.

Encapsulació. L'encapsulació del ferro podria ajudar a superar problemes importants en l'enriquiment dels aliments ja que reduiria els canvis no desitjats de les característiques sensorials i les interaccions del ferro amb d'altres components dels aliments que disminueixen la BD. El punt de fusió relativament baix de les càpsules és una barrera potencial a l'ús de formes encapsulades de ferro per enriquir els aliments bàsics, i per aquesta raó els esforços van dirigits a millorar la qualitat de les càpsules i la resistència a temperatures elevades. Un altre factor limitant és el cost de l'encapsulat que ara per ara és alt.

En un estudi en rates per avaluar l'efecte de l'encapsulació sobre la BD del ferro procedent de sulfat ferrós, citrat amònic fèrric i fumarat ferrós, s'observa que els canvis per petits que siguin en la composició de la càpsula modifiquen la BD del ferro. Per altra banda, s'ha demostrat l'eficàcia del fumarat ferrós encapsulat més àcid ascòrbic com a complement alimentari i del sulfat ferrós afegit a la

sal comuna en el tractament de nens anèmics. En el cas de la sal s'ha de millorar el disseny de la càpsula per augmentar-ne la resistència a la humitat i a l'abrasió i alhora mantenir la BD. Per garantir la BD del ferro dels compostos encapsulats cal fer recerca addicional per veure quines són les tècniques d'encapsulació més eficaces (Zimmerman, 2004).

Nanoestructurats. La reducció a nanoescala de les partícules dels compostos de ferro poc solubles podria augmentar la BD. Els nanoestructurats que contenen ferro i zinc poden ser útils per millorar les deficiències sovint coexistents d'ambdós elements. S'han preparat, per piròlisi i atomització per flama, pólvores de nanoestructurats de ferro i zinc, que contenen majoritàriament $ZnFe_2O_4$, controlant la composició química i l'àrea superficial, a fi d'obtenir nanoestructurats de solubilitat similar a la del sulfat ferrós compatibles amb els continguts màxims de ferro i de zinc. L'addició de nanoestructurats de ferro i zinc a derivats lactis que contenen xocolata o fruita no té més efectes sobre el color que la de sulfat o del fumarat ferrós. Els nanoestructurats es consideren prometedors per a l'enriquiment dels aliments o com a suplementes (Hilty et al., 2009).

3.2. Zinc

La participació del zinc en nombrosos sistemes enzimàtics i vies bioquímiques fa que la deficiència d'aquest element afecti molts òrgans i sistemes, entre altres el gastrointestinal, el nerviós central (SNC), l'immune, l'esquelètic i el reproductor. Participa també en el sistema immunitari i la deficiència provoca disfuncions de la immunitat humoral i mediada per cèl·lules i augmenta la susceptibilitat a les infeccions. La deficiència també es relaciona amb la malaltia hepàtica aguda i/o crònica. Els suplementes de zinc redueixen la incidència d'infecció i les lesions cel·lulars derivades d'un increment d'estrès oxidatiu, protegeixen contra la lesió hepàtica induïda per toxines i s'utilitzen en la teràpia de l'encefalopatia hepàtica en pacients refractaris als tractaments habituals. La deficiència de zinc també s'ha implicat en les diarrees i s'ha vist l'eficàcia de la suplementació en la profilaxi i el tractament de les diarrees agudes (Turk i Fazel, 2009).

Els principals responsables de la deficiència de zinc són el continguts baixos en alguns tipus de dietes que a més per la seva composició fan que la BD sigui baixa. Aquestes dietes són motiu de preocupació, en especial en països on els recursos són escassos, pel paper del zinc en l'etiologia de nombroses malalties i perquè la seva deficiència contribueix al endarreriment del creixement, les elevades prevalences de diarrea i d'incidència de pneumònia, la gravetat de la malària i una mortalitat infantil alta en la població en risc de deficiència (Hotz, 2005). La deficiència de zinc com a causa important de morbiditat i d'alteració del creixement és motiu suficient per buscar indicadors de l'estat de zinc en la població i estudiar els factors dietètics que influeixen en la disponibilitat de l'element (Gibson et al., 2008).

A les societats desenvolupades són les persones grans les que mostren una predisposició especial a patir deficiència de zinc per la vulnerabilitat nutricional i fisiològica associada a l'edat avançada, risc que augmenta en estatus socioeconòmics baixos (Oldewage-Theron et al., 2008). Per altra banda, s'han detectat deficiències marginals i estats nutricionals subòptims de zinc en molts grups de població de països industrialitzats i en vies de desenvolupament deguts en alguns casos a una ingestió inadequada de zinc, però probablement els inhibidors de l'absorció en siguin els principals responsables. Estudis en animals mostren que en l'organisme el zinc es manté estable en un interval ampli d'ingestes (de marginals a altes) gràcies a adaptacions en l'absorció i l'excreció de l'element. L'absorció del zinc dietètic és més eficient quan l'aportació és baixa, fet que es deu més a l'efecte concomitant de la dosi ingerida que a una major expressió de proteïnes de transport com a resposta a ingestes inadequades de zinc.

Per establir les recomanacions dietètiques de zinc és imprescindible conèixer i entendre les relacions entre la ingestió dietètica, la BD i l'absorció del zinc. Les ingestes recomanades de zinc actuals es basen en estimacions factorials de la quantitat absorbida de zinc per compensar l'excreció corporal diària i la quantitat de zinc procedent de les dietes habituals que cal absorbir per obtenir-la. La relació entre el zinc de la dieta i l'absorció es basa en dades de la mitjana d'absorció procedents d'un nombre reduït d'estudis amb mostres de mida petita. La utilització d'aquestes dades implica introduir les variabilitats interlaboratori, dels mètodes analítics i dels

procediments experimentals. Les dades procedents d'un únic mètode de mesura de l'absorció de zinc isotòpic de dietes usuales amb diferents continguts de zinc i d'àcid fitínic poden contribuir a validar els models de la relació entre el zinc dietètic i la seva absorció (Hunt et al., 2008).

3.2.1. Factors dietètics que influeixen en l'absorció de zinc

El zinc dietètic s'absorbeix en percentatges molt variables que oscil·len entre el 15% dels cereals integrals i el 50% dels aliments molt refinats o semisintètics. La responsable principal d'aquesta variabilitat és la presència d'inhibidors de l'absorció. En les dietes a base de cereals integrals i de llegum els continguts d'inhibidors són alts i la BD del zinc que proporcionen és baixa. Les intervencions per millorar l'alimentació i l'estat nutricional de zinc consisteixen bàsicament a incrementar-ne la BD per disminució o augment, respectivament, dels continguts d'inhibidors i potenciadors de l'absorció. Si bé en el cas de l'absorció de zinc i a diferència del que passa en el ferro, el paper dels inhibidors és més important que el dels potenciadors. Conèixer els factors dietètics que inhibeixen l'absorció de zinc i les formes de contrarestar-los o eliminar-los és indispensable per dissenyar estratègies adequades per millorar l'estat nutricional en zinc dels grups de població vulnerables (Lönnerdal, 2000).

Potenciadors. Estudis en animals i en models *in vitro* (dialisabilitat) mostren l'efecte positiu del contingut proteic d'un aliment o dieta en la BD del zinc, si bé no totes les proteïnes actuen igual, per exemple la caseïna té un modest efecte inhibidor sobre l'absorció del zinc. També s'associen a una major BD del zinc alguns aminoàcids (cisteïna, metionina, tirosina, histidina, triptòfan o leucina) i compostos de baix pes molecular com EDTA i àcids orgànics (per exemple, citrats) (Lönnerdal, 2000).

Inhibidors. Els inhibidors més potents i millor estudiats de l'absorció del zinc són els fitinats (mioinositol fosfats), components intrínsecs d'aliments bàsics com cereals (blat, blat de moro, arròs) i llegum. Els compostos amb major grau de fosforilació (inositol hexafosfat i pentafofosfat) tenen un efecte negatiu en l'absorció de zinc mentre que els menys fosforilats no exerceixen, o si de cas ho fan de forma molt feble, cap efecte. Així doncs l'eliminació o la disminució del

contingut de fitinats per tractament amb fitases, precipitació, germinació, fermentació o enginyeria genètica millora l'absorció de zinc. L'efecte inhibidor dels fitinats és menys evident quan la varietat de la dieta millora.

Nombrosos estudis han avaluat l'efecte dels fitinats en l'absorció del zinc de la dieta. En un, d'interès perquè es tracta d'un assaig en humans que pot contribuir a validar els models de la relació entre el zinc dietètic i l'absorció, s'estudia l'efecte de dietes usuales amb diferents continguts de zinc i d'àcid fitínic sobre l'absorció de l'element. L'estudi amb radiomarcadors inclou tres assaigs en adults sans ($n = 109$) per avaluar l'absorció de zinc de dietes controlades, abans i després de 4 o 8 setmanes d'equilibri dietètic. Preparen deu dietes amb continguts de zinc variats (4 a 29 mg), en cinc, les relacions molars entre els fitats i el zinc estan compreses entre 2 i 7, i en les altres cinc entre 15 i 23. En tots els tipus de dietes el rendiment de l'absorció es relaciona de forma inversa amb el contingut de zinc. Quan les dietes són pobres en fitinats augmenta l'absorció fins a un 92% en resposta a una ingestió baixa de zinc (11mg/d), durant 4-8 setmanes. Els resultats obtinguts són útils per validar i millorar el model de transport saturable que prediu l'absorció de zinc de les dietes que contenen fitinats. Possibles biomarcadors d'alteracions de l'estat de zinc (fragilitat osmòtica dels eritròcits, captació de ^{65}Zn i expressió leucocitària de les proteïnes de transport de zinc (Zip1 i ZnT1) no responen al zinc dietètic. La principal conclusió és que l'eficiència de l'absorció de zinc en humans augmenta quan les aportacions dietètiques de zinc i fitinats són baixes, en produir-se una adaptació al cap d'unes setmanes i no és així quan les dietes tenen continguts baixos de zinc, però són riques en fitinats (Hunt et al., 2008).

Així doncs, els continguts de zinc i de fitinats de la dieta són els principals determinants de la fracció del zinc ingerit que s'absorbeix. Les estimacions recents de les ingestes dietètiques de referència (DRI) de zinc de l'Institut de Medicina (IOM) dels EUA es basen en dietes amb continguts baixos o nuls de fitinats. L'estudi, amb un model de tres variables (quantitat de zinc absorbit en funció dels continguts dietètics de zinc i de fitinats), de l'efecte sobre les DRI de zinc de quantitats creixents de fitinats dietètics, mostra que els EAR (Estimated Average Requirement) predits en aplicar el model lliure de fitinats són molt pròximes als EAR de l'IOM. Aquests EAR es dupliquen i tripliquen, respectivament, quan s'afegeixen

1000 i de 2000 mg de fitinats. De l'aplicació del model se'n desprèn que homes i dones podrien no assolir els valors dels EAR quan les relacions molars fitat:zinc siguin superiors a 11:1 i 15:1, respectivament. L'efecte dels fitinats sobre els límits superiors es va predir estimant la quantitat de zinc absorbit (6,4 mg zinc /dia) amb una ingesta de dietes lliures de fitinats i un contingut de zinc (40 mg) que correspon al límit superior. L'extrapolació del model mostra que, per exemple, si l'aportació de fitinats és de 900 mg /dia, per absorbir 6,4 mg de zinc /dia cal ingerir 100 mg de zinc /dia. Per comprovar la validesa de les prediccions s'han de fer estudis experimentals amb ingestes de zinc més elevades (Hambidge et al., 2008).

El calci s'ha assenyalat com a inhibidor de la BD del zinc, però la seva activitat és molt variable en funció de la presència o l'absència d'altres components de la dieta i del contingut mineral de l'àpat. En dones sanes que ingereixen menús que contenen aliments usuals (alguns d'ells enriquits amb calci), s'observa que si bé els fitinats de la dieta disminueixen l'absorció del zinc, el calci no la modifica, independentment de quins siguin els continguts de fitinats (Hunt i Beiseigel, 2009).

3.2.2. Grups vulnerables a les deficiències de ferro i de zinc

Nens. La primera infància (de 0 a 6 mesos), la segona (de 6 a 24 mesos) i l'adolescència (12 a 18 anys) són períodes crítics del desenvolupament. Per a la població pediàtrica ferro, zinc i calci són elements minerals d'interès especial. Garantir unes aportacions suficients per satisfer els requeriments elevats d'aquesta etapa de la vida pot obligar a modificar la BD mineral. Aquesta BD és alta en els elements de la llet humana, però a partir dels sis mesos de vida és necessari introduir altres aliments per mantenir un estat nutricional de ferro adequat. En nens prematurs o de baix pes en el moment de néixer alimentats amb llet materna el suplement de ferro s'ha d'introduir abans. Aquests fets s'han de tenir en compte en els estudis de BD mineral, perquè la manca de grups control ben aparellats pel que fa a l'edat i/o estat nutricional pot amagar diferències en la utilització de nutrients (Krebs, 2001).

Continguts elevats d'àcid fitínic en l'alimentació complementària dels lactants tenen un efecte negatiu sobre l'absorció de ferro

mentre que la influència en l'absorció de zinc dels lactants sembla modesta, encara que possiblement sigui important en infants que es recuperen d'una infecció. L'àmplia presència de deficiències de ferro i de zinc entre els lactants i nens petits dels països en desenvolupament i les greus conseqüències en el creixement i el desenvolupament expliquen l'interès dels estudis de la BD del ferro i del zinc de l'alimentació complementària, estudis que malgrat això encara són escassos. En un es mostra que el ferro de farinetes a base de cereals integrals i llegum (àcid fitínic $\approx 1\text{g}/100\text{g}$) només s'absorbeix d'un 2 a un 3% fins i tot en persones amb deficiència de ferro, i que una disminució del 90% del contingut d'àcid fitínic ($\approx 100\text{mg}/100\text{g}$ de producte sec) duplicaria l'absorció de ferro, mentre que la degradació completa la multiplicaria per cinc. Per tant, la millora de l'absorció de ferro s'aconsegueix eliminant pràcticament l'àcid fitínic, si això no fos possible s'aconsella que en els aliments enriquits la relació molar àcid fitínic:ferro sigui inferior a 1 o preferiblement a 0,5. L'absorció de zinc és satisfactòria quan els continguts d'àcid fitínic són baixos (20–30 mg/100 g producte sec) (Hurrell, 2003).

Vegetarians. Cereals i llegum són les principals fonts proteiques de les dietes vegetarianes, que pels seus continguts elevats d'àcid fitínic tenen un efecte negatiu sobre l'absorció de ferro i de zinc. Les conseqüències per a la salut de la baixa BD de ferro i de zinc són poc clares, en especial en les dietes dels països industrialitzats que contenen aliments abundants i variats i on es recomana reduir el consum de carn i augmentar el de llegum i cereals integrals. Encara que els dipòsits de ferro dels vegetarians són baixos en els que segueixen dietes variades i abundants, característiques dels països industrialitzats, no s'han detectat efectes adversos per a la salut a conseqüència de la baixa absorció de ferro i de zinc. Amb referència a això cal recordar la hipòtesi segons la qual dipòsits de ferro moderadament baixos disminueixen el risc de malalties cròniques. Això no obstant, les dones premenopàusiques difícilment assoliran les recomanacions de ferro amb dietes vegetarianes, si bé per altra banda encara no s'han demostrat els beneficis de la ingestió rutinària de suplement de ferro. En nens vegetarians i dones en edat fèrtil seria prudent monitoritzar l'hemoglobinèmia mentre que per determinar el risc de deficiència de zinc en els vegetarians caldria millorar els mètodes d'avaluació, tasca d'especial interès atès l'augment de la popularitat de les dietes vegetarianes (Hunt, 2003).

Una revisió crítica de les proves científiques disponibles de l'impacte d'enriquir els aliments sobre l'estat nutricional de zinc mostra que l'enriquiment augmenta la ingesta dietètica diària i la quantitat total de zinc absorbida. A més, la majoria dels estudis troben que l'addició de zinc als aliments no influeix de forma negativa en l'absorció de ferro. Malgrat això són escassos els estudis que mostren un impacte positiu de l'enriquiment de zinc en el contingut en sèrum o en altres indicadors de l'estat funcional. Les causes d'aquests resultats contradictoris són dubtoses, però podrien estar relacionades amb la selecció de l'aliment vehicle, el grup d'edat i l'estat de zinc de les poblacions estudiades, o potser ser atribuïbles al disseny de l'estudi. És necessari fer més avaluacions per determinar l'impacte de l'enriquiment en zinc com a element únic o juntament amb d'altres micronutrients, en les poblacions en risc de deficiència de zinc. Si es consideren els beneficis d'incrementar la ingestió de zinc de les poblacions amb un grau elevat de risc de deficiència i augmentar la de la quantitat total absorbida, sense que hi hagin factors adversos, paral·lelament a un cost relativament baix, sembla raonable incloure l'enriquiment en zinc en els programes de salut pública de poblacions en risc de deficiència. En qualsevol cas és imprescindible avaluar els resultats de la intervenció (Hess i Brown, 2009).

4. Elements tòxics

Els aliments poden contenir quantitats petites d'elements tòxics (arsènic i mercuri) presents en diferents formes químiques les quals difereixen en la BD i la toxicitat. Mentre que la toxicitat de les formes orgàniques d'arsènic és menor que la de les inorgàniques, en el mercuri pel contrari les formes orgàniques són les més tòxiques.

4.1. Arsènic

Entre els compostos d'arsènic hi ha els inorgànics, que poden ser d'arsènic (III) i d'arsènic (V), els orgànics i l'arseniur d'hidrogen que per la seva volatilitat i fort caràcter reductor no és present en els aliments. Aquesta classificació té interès perquè la toxicitat del compostos d'arsènic depèn de la forma química i de l'estat d'oxidació o valència ja que els compostos inorgànics són molt més tòxics

que els orgànics i l'arsènic (III) més tòxic que l'arsènic (V). Entre les formes orgàniques d'arsènic hi ha els metabòlits metilats com l'àcid monometilarsònic, l'àcid dimetil arsínic, l'òxid de trimetil arsina i compostos orgànics complexos (arsenobetaïna i arsenocolina) que són menys tòxics que els inorgànics (EFSA, 2005).

Un altre factor que influeix en la toxicitat de l'arsènic és la seva BD que depèn com la de la majoria dels elements de: el tipus de matriu que el conté, l'espècie química, l'estat d'oxidació, la reactivitat, la solubilitat, i la capacitat de formar complexos organometàl·lics i d'interaccionar amb factors individuals (Alegría et al., 2006).

Els compostos solubles d'arsènic (III) o (V) i els compostos orgànics d'arsènic dels aliments d'origen marí s'absorbeixen de forma ràpida i gairebé completa (70-90%) en el tracte intestinal (EFSA, 2005; EFSA, 2009), mentre que l'absorció dels compostos menys solubles com el triòxid d'arsènic és molt menor.

Per a les persones no exposades a l'arsènic per motius laborals, els aliments, en concret, el peix i derivats, són la principal font d'arsènic (Ysart et al., 1999; Llobet et al., 2003). En aquest tipus d'aliments l'arsènic hi està en forma de compostos orgànics, alguns innocus (arsenobetaïna, arsenocolina, òxid de trimetilarsina i arsonosucre) i d'altres tòxics (àcids dimetilarsínic i monometilarsònic i l'ió tetrametilarsonium) (Suñer et al., 2002). El fet que les espècies d'arsènic difereixin àmpliament en toxicitat fa necessària l'especiació per a una millor avaluació del risc per a la salut associat al consum d'aliments d'origen marí (Sayago et al., 2006). Aquests es consumeixen cuits de forma majoritària. El procés de cocció pot modificar les espècies d'arsènic presents al producte inicial, així, per exemple, l'arsenobetaïna, principal compost arseniacal de peix i marisc, durant la cocció es transforma en ió tetrametilarsonium i així canvia el risc toxicològic associat al consum (Suñer et al., 2002).

La manca de dades relatives a la BD de les espècies organoarsenicals presents al peix i al marisc i la possible modificació de l'estimació del risc com a conseqüència de la digestió gastrointestinal han portat a estudiar la bioaccessibilitat i el transport per cèl·lules Caco-2 d'espècies organoarsenicals presents en aquests productes i la influència dels processos de cocció en el procés. L'estimació de la bioaccessibilitat de l'arsènic de llenguado i halibut proporciona els

valors següents: arsenobetaina (67,5 al 100%), àcid dimetilarsínic (30%), ió tetrametilarsonium (45%) i òxid de trimetilarsina (superiors al 50%), la cocció no modifica aquests valors. L'avaluació del transport amb cèl·lules Caco-2 proporciona valors compresos entre l'1,7% per l'arsenobetaina i el 15% per l'ió tetrametilarsonium (Laparra et al., 2007).

Una altra possible font d'arsènic són les algues el consum de les quals va en augment en determinats grups de població. Els continguts d'arsènic total i inorgànic d'algues comercialitzades i analitzades a Espanya oscil·len entre 2,3 i 141 mg/kg pes sec i entre 0,15 i 88 mg/kg pes sec, respectivament. L'alga *Hizikia fusiformis* (Harv) destaca pel seus continguts elevats d'arsènic total 115 a 141 mg/kg pes sec i d'arsènic inorgànic (83 a 88 mg/kg pes sec), que a més mostren una bioaccessibilitat relativament alta, arsènic total (32 a 67%) i arsènic inorgànic (49 a 75%). La cocció influeix en la bioaccessibilitat d'ambdós tipus d'arsènic (Almela et al., 2002; Almela et al., 2005; Laparra et al., 2009b).

4.2. Mercuri

El mercuri és un element àmpliament distribuït a l'escorça terrestre en diferents formes químiques: mercuri elemental o metàl·lic, compostos inorgànics de mercuri (II) (clorur i sulfur) i compostos orgànics de mercuri. Cadascuna d'aquestes formes mostra una toxicinètica i efectes característics sobre la salut. El metilmercuri (MeHg) és l'espècie química majoritària en els aliments.

En l'avaluació del risc per a la salut de l'exposició dietètica a mercuri s'assumeix que peix i marisc són les principals fonts i que pràcticament tot el mercuri està en forma de MeHg, el compost més biodisponible i perillós d'aquest element. Ara bé, això no sempre és cert, així a la dieta d'alguns grups de població com, per exemple, els inuït del nord del Canadà, s'assumeix que únicament 2/3 del mercuri dietètic es troba en forma de MeHg perquè els òrgans dels mamífers també components de la dieta presenten continguts alts de mercuri inorgànic. Per altra banda, en avaluar la bioaccessibilitat del mercuri procedent d'aliments típics d'aquest grup de

població es comprova el paper de la microbiota intestinal que és positiu o negatiu segons el tipus d'aliment (Laird et al., 2009).

Els coneixements actuals justifiquen la necessitat de determinar els continguts de MeHg dels diferents tipus de peix i marisc de consum habitual per conèixer millor la relació MeHg/Hg i poder avaluar de forma més exacta el risc derivat del consum de peix que els conté (OMS; 2008).

5. Compostos bioactius

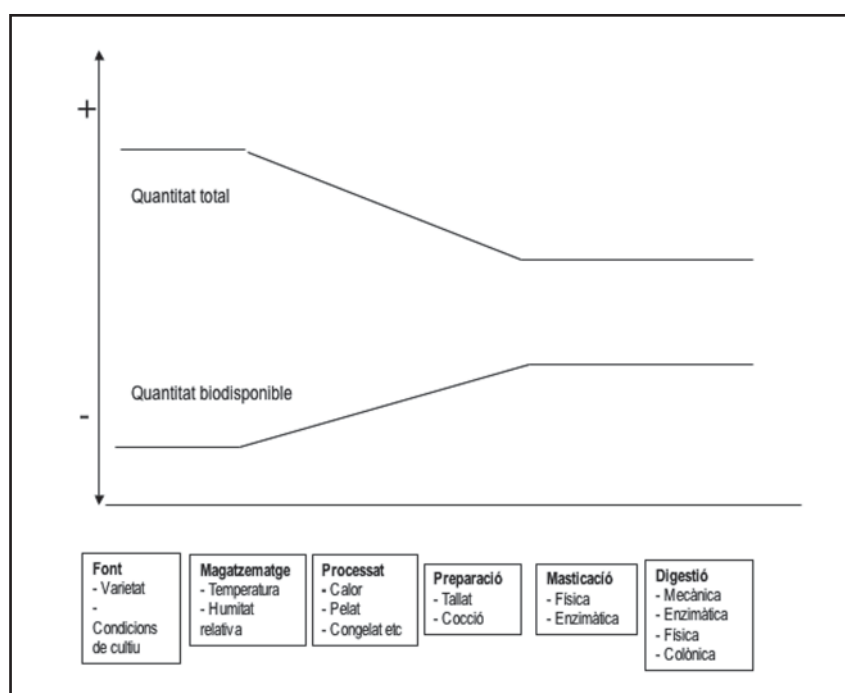
Des fa uns anys els compostos bioactius dels aliments, sigui en forma pura o en extractes de vegetals, són objecte d'estudi i recerca en alimentació i nutrició, a partir de l'observació mitjançant assaigs *in vitro* d'activitats amb efectes beneficiosos per a la salut. L'estudi d'un component bioactiu inclou en primer lloc el cribratge de les seves possibles activitats (antioxidant, antiinflamatòria, antitumoral, etc.) i bastant més endavant l'avaluació del comportament en l'organisme.

En el moment actual, l'estudi de la BD dels compostos bioactius dels vegetals és una àrea de recerca que té per objectiu determinar la contribució real dels aliments a l'aportació d'aquest tipus de compostos, entre altres els antioxidants i establir les condicions d'elaboració, processat i/o preparació que potenciïn al màxim els beneficis per a la salut derivats de la ingestió dels aliments que en contenen.

La manca inicial de models experimentals ben definits per estudiar la BA dels components bioactius no va impedir l'obtenció d'informació rellevant sobre la seva BD. Se sap que la microestructura de l'aliment influeix en la BD d'alguns d'aquests compostos, per tant, processos de preparació com la mòlta, la fermentació i el tractament tèrmic suau poden millorar la BD, molt probablement com a conseqüència de la disrupció de les parets de les cèl·lules dels teixits vegetals, la dissociació dels complexos nutrient-matriu o la transformació en estructures moleculars més reactives. A la figura 2 es mostren els factors (degradació química durant l'emmagatzematge i pèrdues en el processat) que contribueixen a la disminució

del contingut d'un nutrient o d'un compost bioactiu en la cadena alimentària alhora que augmenta la seva BD (Parada et al., 2007).

Figura 2.- Disminució del contingut d'un compost en un aliment com a conseqüència del processat, mentre que augmenta la quantitat biodisponible per supressió dels efectes deguts a la matriu alimentària (adaptat de Parada et al., 2007).



5.1. Carotenoides

Nombrosos estudis epidemiològics relacionen les dietes riques en fruita i vegetals amb un estat de salut òptim.

Els carotenoides són pigments lipofílics dels vegetals als quals proporcionen coloracions grogues, taronges i vermelles. Majoritàriament estan presents a les fulles verdes dels vegetals amb la funció d'absorbir llum en la fotosíntesi i protegir les plantes contra la fotosensibilització. Es concentren en part als cromoplasts i cloroplasts i se n'han identificat 600 de diferents. Als fruits es dipositen de forma selectiva en els diferents teixits.

En els humans, l'interès radica en el fet de ser precursors de la vitamina A i ser necessaris per a la visió (luteïna i zeaxantina es dipositen a la retina), la diferenciació cel·lular i el sistema immunitari. A més, s'han assenyalat efectes beneficiosos dels carotenoides de la dieta en la prevenció de nombroses malalties, entre altres trastorns de la visió i alguns tipus de càncer com per exemple, el de pròstata. Per tot això, els carotenoides constitueixen un dels grups de components minoritaris dels aliments que contribueixen als beneficis per a la salut derivats del consum de fruita i verdura.

El β -carotè, la criptoxantina, la luteïna i el licopè són els cinc carotenoides principals presents al plasma després d'ingerir vegetals. Els carotenoides s'alliberen de la matriu aliment en un grau molt variable segons que estiguin o no units de forma no covalent a les proteïnes o a la fibra, dissolts en els lípids (blat de moro o palma) o en forma cristal·lina (pastanagues), formes de presentació que fan difícil aconseguir una absorció òptima (Yeum i Russell, 2002). En general, la BD dels carotenoides s'estima compresa entre el 10% (vegetals crus) i el 50% (olis i aliments processats). La BD de carotenoides extrets de la matriu aliment pot ser molt baixa, com s'ha vist en estudis *in vivo* en humans per a la capsantina i la capsorubina procedents de l'oleoresina del pebre vermell, si bé és una bona font de β -carotè i β -criptoxantina, ambdós amb activitat provitamínica A, així com de zeaxantina, el pigment de la màcula lúcia (Pérez-Gálvez et al., 2003).

5.1.1. Factors que influeixen en la BD dels carotenoides

Els carotenoides són un molt bon exemple de com la manca de coneixement de l'estructura dels aliments, de la complexitat del comportament durant la digestió i de les diferències interindividuais en la resposta, pot fer que els resultats dels estudis s'interpretin de forma incorrecta. Entendre i mesurar la BD dels carotenoides implica superar quatre reptes: 1) l'alliberament dels carotenoides de l'estructura de l'aliment i la transformació en una forma absorbible (BA), 2) el pas dels carotenoides del lumen intestinal a l'organisme (absorció), 3) la interpretació de la resposta plasmàtica i 4) la variabilitat interindividual (Faulks i Southon, 2005).

Les limitacions en el coneixement dels mecanismes d'absorció sovint han fet difícil l'avaluació de la BD dels carotenoides, però estudis recents han contribuït a elucidar aspectes importants de la digestió i l'absorció. La disrupció de la matriu alimentària i quantitats creixents de greix semblen millorar en major grau l'absorció dels carotens que la de les xantofil·les. Per altra banda, las xantofil·les semblen alliberar-se més fàcilment de la matriu alimentària i transformar-se en micel·les de forma més eficient que els carotens, si bé aquests són millor captats pels enteròcits. De tota manera, la matriu aliment i els components de la dieta influeixen molt en les fases d'emulsificació i micel·lació, que són els principals determinants de la BD dels carotenoides dels aliments. Encara que es creia que l'absorció intestinal dels carotenoides es produïa per simple difusió s'ha demostrat que alguns carotenoides ho fan mitjançant un procés facilitat, que si més no en el cas de la luteïna necessita un receptor captador de classe B tipus 1 (SR-B1) (Borel et al., 2005).

El caràcter hidrofòbic dels carotenoides fa que l'absorció depengui de l'alliberament de la matriu aliment i de la posterior solubilització per acció dels àcids biliars i dels enzims digestius, per finalment incorporar-se a les micel·les. Per això els lípids de la dieta juguen un paper important en la BD dels carotenoides, en especial dels procedents de la fruita amb contingut lipídic baix. La quantitat de greix dietètic necessària per garantir l'absorció dels carotenoides sembla que és petita (~3 – 5 g per àpat) si bé depèn de les característiques fisicoquímiques dels carotenoides ingerits. La BD pot disminuir per acció dels compostos liposolubles que no s'absorbeixen i per la interacció entre els mateixos carotenoides (van het Hof et al., 2000a).

Les característiques de la matriu alimentària que influeixen en l'eficiència de la digestió física, enzimàtica i química, regulen la BA dels carotenoides. També ho fa el grau de dispersió en els aliments dels carotenoides que s'utilitzen com a colorants alimentaris ja que influeix en l'absorció. Mentre que si es tracta de suplement, l'absorció depèn del temps transcorregut entre la ingesta del suplement i la d'un aliment o àpat que proporcioni greix. Els carotenoides dels vegetals només s'alliberen després de la disrupció de les cèl·lules vegetals que es produeix durant la preparació i/o la masticació dels aliments. Així, la BD del β -carotè del vegetals és baixa (14% en una barreja de vegetals) comparada amb la corresponent al β -carotè purificat addicionat a una matriu senzilla (condiment per a amani-

des), mentre que per a la luteïna, la diferència és molt menor (BD relativa del 67% de la procedent d'una mescla de vegetals) (van het Hof et al., 2000a). Un cop alliberats els carotenoides, el principal factor limitant de l'absorció és la solubilitat en el digerit. La millor forma d'estudiar l'absorció és mesurant el pas dels carotenoides als quilomicrons perquè permet tenir en compte les diferències interindividuals en el metabolisme lipoproteic (Faulks i Southon, 2005). Els estudis referits als beneficis funcionals dels carotenoides han de tenir en compte que la BD del β -carotè és d'un ordre de magnitud més alta quan s'administra en forma de compost pur afegit als aliments que quan es tracta del component intrínsec d'aquests. La forma de preparació dels aliments també pot influir en la BD dels carotenoides. Això fa que la BD del licopè dels tomàquets, principal font dietètica, sigui més gran quan procedeix de pasta o puré de tomàquet que la del tomàquet cru no processat. La disrupció de la matriu cel·lular per homogeneïtzació mecànica i/o el tractament tèrmic milloren la BD del licopè i del β -carotè. La mesura de la concentració plasmàtica després de quatre dies d'intervenció és útil per comparar la BD dels carotenoides de diferents fonts dietètiques (van het Hof et al., 2000a).

En l'elaboració dels aliments, l'homogeneïtzació mecànica o el tractament per calor poden incrementar (des d'un 18% fins a multiplicar-la per sis) la BD dels carotenoides dels vegetals (van het Hof et al., 2000a). És ben conegut que la cocció pot augmentar l'extractibilitat del β -carotè de la matriu vegetal i millorar-ne la BD. Dones que mengen diàriament pastanagues i espinacs cuits, durant quatre setmanes, presenten concentracions plasmàtiques de β -carotè tres cops més altes que les que ingereixen la mateixa quantitat de β -carotè procedent de vegetals crus (Rock et al., 1998). En altres estudis (Edwards et al., 2002; Livny et al., 2003) també es conclou que els vegetals cuits i en forma de puré són millor font de β -carotè que els crus.

A diferència d'altres lípids de la dieta, l'absorció dels carotenoides és poc eficient i com s'ha dit es pot modificar per la matriu alimentària, la forma de preparar els aliments, altres components de la dieta i l'estat nutricional i fisiològic individual, fets que en conjunt fan difícil de predir de forma fiable la BD que presenten.

Els mètodes *in vitro* proposats per avaluar la BA inclouen la digestió simulada (oral, gàstrica i a l'intestí prim) de les mostres per obtenir l'eficiència d'incorporació a les micel·les, etapa obligatòria per a l'absorció dels compostos lipofílics. El model es pot ampliar afegint les micel·les generades en la fase de digestió a l'intestí prim, a monocapes de cèl·lules Caco-2 per estudiar la captació apical, el metabolisme cel·lular i el transport transepitelial dels carotenoides (Failla et al., 2008).

S'ha trobat una correlació entre la BA *in vitro* dels carotenoides i els resultats obtinguts en assaigs *in vivo* inclosos els estudis en humans (Borel et al., 2005).

Per elucidar el mecanisme d'absorció de cada un dels carotenoides, seria útil comparar-ne les absorcions intestinals d'una àmplia gamma (Yonekura i Nagao, 2007).

5.1.2. Fonts de carotenoides i alguns beneficis per a la salut

La luteïna és un component de les fulles verdes de molts vegetals i del rovell de l'ou que des fa més de deu anys s'utilitza com a complement alimentari i en l'enriquiment dels aliments per reduir el risc de degeneració macular relacionada amb l'edat. Dels nombrosos carotenoides que hi ha al sèrum humà, únicament la luteïna i la zeaxantina s'acumulen als teixits de l'ull (lents i regió macular de la retina). A la màcula lútea li corresponen els continguts més alts d'aquestes xantofil·les. Per aquesta raó, luteïna i zeaxantina es coneixen també com a pigments de la màcula, i poden tenir una varietat de papers en la visió especialitzada dels primats superiors (Stringham i Hammond, 2005). S'ha suggerit una relació entre la densitat del pigment macular òptic, marcador dels continguts de luteïna i zeaxantina a la màcula i la densitat òptica de les lents, antecedent dels canvis que donen lloc a les cataractes. Les xantofil·les poden actuar protegint l'ull de la fototoxicitat ultraviolada per captació (quenching) de les espècies reactives d'oxigen i/o altres mecanismes. Alguns estudis observacionals han mostrat com ingestes altes de luteïna i zeaxantina, en especial les procedents d'aliments rics en xantofil·les com els espinacs, el bròquil i els ous, s'associen a una reducció significativa del risc de cataractes (fins a un 20%) i de degeneració macular relacionada amb l'edat (fins a un 40%). Encara que la patofisiologia d'aquests trastorns oculars és comple-

xa i té components ambientals i genètics, els estudis suggereixen que els factors dietètics, entre altres les vitamines antioxidants i les xantofil·les, poden contribuir a reduir el risc. També en aquest cas es necessiten més estudis per confirmar-ho (Moeller et al., 2000).

La manca d'informació sobre la BD de la luteïna procedent de diferents fonts ha originat diferents estudis orientats a fer-ne una avaluació. Un estudi de disseny creuat compara la BD de luteïna lliure i esterificada en forma de suplement, de luteïna procedent d'espínacs i d'ou enriquit amb luteïna. A deu persones sanes, després d'un període de rentat de dues setmanes (dieta pobre en carotenoides) els administren durant nou dies una de les diferents fonts que proporciona en tots els casos 6 mg de luteïna, excepte en l'èster de luteïna (5,6 mequivalents de luteïna). Les quatre fonts s'administren en ordre aleatori a tots els participants. Mesuren el canvis de concentració sèrica de luteïna i veuen que al desè dia, amb l'ou enriquit en luteïna s'obté una resposta sèrica significativament més alta que amb les altres fonts, que per la seva banda proporcionen una resposta similar i, per tant, també BD. Els resultats de l'estudi són interessants per a la selecció de fonts dietètiques de luteïna útils per a la prevenció d'algunes malalties com, per exemple, la degeneració macular de la retina lligada a l'edat (Chung et al., 2004).

Un altre estudi avalua mitjançant assaigs *in vivo* i *in vitro* la BD de la luteïna procedent de llet fermentada enriquida. A 24 voluntaris, seleccionats de forma aleatòria, se'ls administra llet fermentada enriquida en luteïna a dos nivells durant 14 dies. L'estudi observa que el consum regular d'aquesta llet en les ingestes assajades (4- 8 mg/dia) pot augmentar la concentració sèrica de luteïna a un valor superior a 0,50 $\mu\text{mols/L}$, que correspon al percentil 90 dels intervals de referència de poblacions europees i dels EUA. Aquests resultats mostren l'adequació de la llet fermentada com a vehicle d'èsters de la luteïna i l'eficàcia de la intervenció alimentària per millorar l'estat nutricional en luteïna. Al mateix temps i amb un assaig *in vitro* comprova que, independentment de la dosi utilitzada, els èsters de la luteïna són resistents a la hidròlisi ($\approx 1\%$). Es confirma la utilitat dels models *in vitro* com a font d'informació adequada per predir les respostes *in vivo* (Granado Lorencio et al., 2010).

En els darrers anys, el desenvolupament i la comercialització d'aliments funcionals i de suplementos per part de la indústria ha experi-

mentat un augment exponencial malgrat el coneixement insuficient de la BD dels components bioactius del aliments i de les interferències potencials derivades de la presència d'altres components de l'aliment o de la dieta. Si bé ara es veu la necessitat de estudiar-la i avaluar-la per poder garantir els efectes per a la salut que s'atribueixen a aquests compostos.

Els estudis que es duen a terme combinen els assaigs *in vivo* amb els *in vitro*. Així, per avaluar l'efecte dels modificadors de l'absorció (llet i ferro) sobre la BA *in vitro* i la resposta sèrica *in vivo* dels carotenoides i de l'alfa-tocoferol dels suc de fruita, es fa un assaig en 32 dones joves que consisteix en tres períodes de suplement (21 dies cada un) entre els quals s'intercalen dues setmanes de rentat. Administren de forma consecutiva 2 x 250 ml/dia de suc de fruita enriquït amb vitamina C, suc de fruita amb llet i suc de fruita amb llet i ferro i recullen mostres de sang en dejú abans i després de cada període de suplement. La BA *in vitro* dels carotenoides i de l'alfa-tocoferol s'avalua amb un model estàtic de digestió i la vitamina E i els carotenoides es determinen per cromatografia líquida d'alta resolució. La presència de modificadors de l'absorció incrementa la hidròlisi dels èsters de la xantofil·la i la transferència de les xantofil·les lliures i de l'alfa tocoferol a la fase micel·lar. *In vivo* i en una mateixa participant, la ingestió de suc de fruita augmenta de forma significativa els continguts sèrics d'alfa-tocoferol i d'alguns carotenoides i s'observen increments sèrics (ajustats a la dosi) més alts amb els suc amb llet i amb llet i ferro, si bé les diferències no són estadísticament significatives. La conclusió és que la presència de llet i de llet més ferro no afecta la BD *in vivo* dels carotenoides i de l'alfa tocoferol dels suc de fruita. Els resultats recolzen un cop més la utilització de models *in vitro* per avaluar els factors dietètics que influeixen en la BD de carotenoides i tocoferols dels aliments (Granado-Lorencio et al., 2009).

Des fa dècades, el consum de pastanagues s'associa a beneficis per a la salut en relacionar el color groc ataronjat de l'hortalissa amb la presència de carotenoides i l'activitat provitamínica A. Al llarg del anys s'han desenvolupat pastanagues de color taronja-porpra-vermell que a més d'activitat provitamínica A contenen antocianines i licopè, antioxidants potents. Aquest tipus de pastanagues poden significar un progrés significatiu en el camp dels aliments funcionals sempre que aquests compostos no interfereixin en la BD dels

carotenoides (Arscott i Tanumihardjo, 2010). Per avaluar la BD del β -carotè en humans fan un assaig amb líquats/purés de taronges i de pastanagues porpra amb el mateix contingut de all-trans- β -carotè (10,3mg) i un control blanc, que administren a l'hora de l'esmorzar en forma de líquat/puré a dones (n = 5, de 21 a 26 anys) després d'un període de rentat. Determinen el contingut plasmàtic de β -carotè durant 144 h després del tractament, sense trobar diferències entre els dos tipus de puré, dada que indicaria que les antocianines no afecten l'absorció postprandial de β -carotè (Arscott et al., 2010).

5.2. Polifenols

Els resultats de nombrosos estudis epidemiològics indiquen que els polifenols podrien contribuir a reduir el risc d'un ampli ventall de malalties cròniques/no declarables. Observacions que s'han de confirmar mitjançant assaigs aleatoritzats controlats amb placebo en humans. Una metaanàlisi recent revela activitats prometedores dels polifenols del cacau, la soja i el te en la dilatació vehiculada per flux, la pressió sanguínia i el colesterol-LDL (Williamson i Holst, 2008).

Per altra banda, en la majoria de casos les activitats biològiques amb beneficis per a la salut dels polifenols s'han observat en assaigs *in vitro* en els quals s'han utilitzat aglucones. És a dir, la forma avaluada no es correspon amb el glicòsid al qual en realitat estan exposats els humans i prescindeix del paper que digestió i absorció (BD) i metabolització poden jugar en els efectes obtinguts. Així doncs a l'hora d'interpretar els resultats dels estudis d'avaluació dels compostos bioactius s'han de tenir en compte les condicions de l'assaig i la forma de compost avaluada (Manach et al., 2005; Murphy i Hendrich, 2010).

Encara que l'efecte protector dels fenols de la dieta s'ha atribuït en gran part a l'activitat antioxidant que redueix els continguts de radicals lliures en l'organisme, actualment hi ha proves que indiquen que els metabòlits dels polifenols presents al plasma a concentracions de nmol/l o mmol/l exerceixen efectes moduladors en les cèl·lules mitjançant accions selectives en diferents components de les cascades de senyals intracel·lulars vitals per a funcions cel·lulars (creixement, proliferació i apoptosi). A més, les concentracions

intracel·lulars necessàries per influir en les vies de senyals cel·lulars són considerablement menors de les que calen per provocar un impacte sobre la capacitat antioxidant (Crozier et al., 2009).

En funció de l'estructura carbonada els polifenols es classifiquen en: àcids fenòlics, flavanoides i els menys freqüents, estilbens i lignans (Scalbert i Williamson, 2000). Els flavanoides dels quals se n'han descrit més de 5000 són el grup més comú de polifenols en els vegetals als quals proporcionen aroma i color. S'estima que dos terços de la ingesta dietètica de polifenols correspon als flavonoides. Les sis principals subclasses inclouen les flavones (apigenina, luteolina...), els flavonols (quercetina, miricetina...), les flavanones (naringenina, hesperidina.....), les catequines o flavanols (epicatequina, galocatequina.....), les antocianidines (cianidina, pelargonidina.....) i les isoflavones (genisteïna, daidzeïna). Majoritàriament estan presents en forma de glicòsids i ocasionalment com a aglucones lliures (Ross i Kasum, 2002).

Les aglucones s'alliberen dels glicòsids durant la digestió per acció de les glicosidases humanes o microbianes. Sembla que només s'absorbeixen les aglucones, que un cop a la mucosa intestinal es transformen en glucurònids o derivats conjugats amb grups sulfat. Es produeixen transformacions addicionals al fetge, als ronyons i en altres òrgans. Els compostos fenòlics absorbits s'excreten per l'orina o a la bilis, en aquest darrer cas, un cop a l'intestí el grup conjugat (glucurònid o sulfat) s'elimina per acció de la microbiota i es produeix una reabsorció amb la transformació concomitant. Més del 90% de les formes que circulen pel plasma són glucurònids o sulfats que interaccionen amb les cèl·lules amb una activitat molt inferior a la que correspon a les aglucones fenòliques de procedència (Zhang et al., 1999; Zhang et al., 2003). La microflora intestinal catabolitzava la majoria de compostos fenòlics dels vegetals i s'estudia la bioactivitat dels metabòlits que igual que els compostos de procedència s'excreten bastant ràpidament, la majoria l'endemà de la ingesta (Heindrich, 2002).

L'extrapolació en l'ésser humà de les activitats dels flavonoides observades en assaigs *in vitro* obliga a tenir en compte, com s'ha assenyalat repetidament, la BD que segons dades procedents d'estudis d'intervenció en humans per a determinats flavonoides és molt més alta del que es creia i en qualsevol cas interessa avaluar-la.

Per a alguns tipus de polifenols de la dieta hi ha un nombre suficient d'estudis d'intervenció que permeten avaluar en humans el tipus i la magnitud dels efectes *in vivo* mitjançant els canvis dels biomarcadors a curt termini. Així, les isoflavones (genisteïna i daidzeïna de la soja) tenen efectes significatius sobre la salut del teixit ossi en dones postmenopàusiques i alguns efectes hormonals febles. Les catequines monomèriques (de les quals el te és una bona font) exerceixen efectes sobre marcadors antioxidants al plasma i el metabolisme energètic. Les procianidines, catequines oligomèriques presents a concentracions elevades al vi negre, raïm, cacau, gerds, pomes i en alguns suplementes com el picnogenol (extracte de l'escorça de pi marí francès que conté bioflavonoides) tenen efectes ben visibles en el sistema vascular, entre aquests, si bé no de forma única, una activitat antioxidant en el plasma. La quercetina (principal representant dels flavonols, que es troba en concentracions altes a les cebes, les pomes, el vi negre, el bròquil, el te....) influeix sobre alguns marcadors de la carcinogènesi i té efectes petits sobre els biomarcadors antioxidants plasmàtics *in vivo*, si bé en alguns estudis no els han pogut detectar. Ara bé, encara que significatius, els efectes antioxidants *in vivo* són limitats si es comparen amb els assenyalats *in vitro*, fet que s'explica per la manca de: 1) biomarcadors *in vivo* validats, especialment a l'àrea de la carcinogènesi, 2) estudis a llarg termini i 3) comprensió dels resultats obtinguts en els estudis *in vitro* de BD, que posteriorment s'han utilitzat per dissenyar els estudis *in vivo*. Totes aquestes qüestions s'han de tenir en compte en el disseny d'estudis *in vitro* i *in vivo*. Per altra banda, els estudis d'intervenció en humans haurien de ser d'una duració suficient per equivaler al consum dietètic dels polifenols a llarg termini (Williamson i Manach, 2005).

El nombre elevat de polifenols i les seves variades estructures fa difícil que en un futur pròxim es pugui disposar de les dades necessàries per establir ingestes dietètiques recomanades de polifenols. En qualsevol cas, per fer-ho és imprescindible conèixer la BD dels polifenols i els efectes que tenen a diferents dosis.

5.2.1. Factors que influeixen en la BD dels polifenols

La preparació culinària dels aliments influeix de forma significativa en el seu contingut de polifenols, així, la pràctica usual de pelar la

fruita n'elimina una fracció important perquè sovint els continguts de la pell són més alts que els de la polpa. El processat industrial dels aliments també pot reduir de forma significativa els continguts de polifenols. S'ha comprovat que els aliments (cebes, cols, pomes i mongetes) processats (enllaunats, en pot de vidre o congelats) tenen continguts de flavonols significativament menors ($\approx 50\%$) que els corresponents productes frescos (Aherne i O'Brien, 2002), però per altra banda el processat pot contribuir a millorar la BD, per exemple, en els tomàquets la disponibilitat dels flavonols augmenta (forma lliure) en afavorir la hidròlisi i l'extracció de la matriu aliment (Stewart et al., 2000).

Un altre factor a tenir en compte és la modificació dels polifenols i la formació de nous compostos en els processos d'elaboració d'aliments com la fermentació del te, el torrat del cafè, la fermentació del most i la maduració/envelliment del vi (van de Wiel et al., 2001).

Els polifenols són molt sensibles al pH alcalí feble de l'intestí prim i això fa que una elevada proporció d'aquests compostos es modifiqui abans de l'absorció (Bermúdez-Soto et al., 2007). L'avaluació de polifenols de grana de raïm amb un sistema *in vitro* (digestió simulada i cèl·lules Caco-2) mostra que l'estabilitat dels polifenols es manté durant les digestions salival i gàstrica, però es modifica en la pancreàtica, que juga un paper important en la BD. Per altra banda, les interaccions entre els compostos fenòlics i les proteïnes (del suc digestiu i/o de les cèl·lules de la vora en raspall o els enzims) que es produeixen principalment durant la fase intestinal, disminueixen la BD (Laurent et al., 2007). Altres factors que influeixen en la BD dels compostos fenòlics són els canvis en l'estructura de la paret cel·lular, la ubicació del glicòsids a les cèl·lules i la unió dels compostos a la matriu aliment (Balasundram et al., 2006).

En els humans s'observa una àmplia variabilitat en la BD i la bioeficàcia dels polifenols, amb diferències de fins a deu vegades en els valors de la concentració plasmàtica màxima de la majoria de compostos fenòlics, fet que en part es pot explicar per diferències en la matriu de l'aliment i de la dieta de procedència (Manach et al., 2005). L'elevada variabilitat en la BD dels diferents polifenols fa que els més abundants en la dieta no siguin necessàriament els que proporcionen els continguts més alts de metabòlits actius al teixit diana. Les dades de 97 estudis s'han utilitzat per avaluar la cinètica

i el grau d'absorció dels polifenols en adults després de la ingesta d'una dosi única administrada en forma de compost pur, extracte vegetal o aliment/beguda. S'han calculat les mitjanes dels valors de la concentració plasmàtica màxima (Cmax), el temps (tmax) necessari per assolir-la, l'àrea sota la corba concentració-temps, la semivida d'eliminació i l'excreció urinària relativa dels 18 polifenols més importants. A la sang hi ha els metabòlits, resultat de les activitats digestiva i hepàtica. Per a una ingesta de 50 mg d'equivalents d'aglucona, els continguts plasmàtics totals dels metabòlits oscil·len entre 0 i 4 $\mu\text{mol/L}$. L'excreció relativa per orina depèn del tipus de polifenol i s'estima compresa entre el 0,3 i el 43% del total ingerit. Els polifenols que millor s'absorbeixen són l'àcid gàl·lic i les isoflavones, seguits de les catequines, les flavanones i els glucurònids de la quercetina. Els que pitjor ho fan són les protoantocianidines, les catequines del te conjugades amb gal·lats i els antocians. No hi ha prou dades per avaluar els àcids hidroxicinàmics i altres polifenols (Manach et al., 2005).

Isoflavones. Les isoflavones són compostos fenòlics amb una estructura molt similar a la dels estrògens de les femelles dels mamífers. Per això i per ser components intrínsecs dels vegetals se'ls anomena fitoestrògens. Se n'ha proposat l'ús en la teràpia d'un gran nombre de trastorns hormonodependents com, per exemple, els trastorns de la menopausa, alguns tipus de càncer, malalties cardiovasculars i osteoporosi (Setchell i Cassidy, 1999; Birt et al., 2001).

Les isoflavones estan presents als vegetals en forma d'aglucones, β -glicòsids, manolil- i acetilglicòsid. Els aliments a base de soja són la principal font dietètica d'isoflavones, majoritàriament en forma de glicòsids, la composició i la concentració dels quals varia en les diferents parts de la llavor (coberta, cotiledó i axis). El procés d'elaboració, per exemple, la fermentació modifica la relació entre els continguts de glicòsids i aglucones, en afavorir la hidròlisi (Setchell i Cassidy, 1999; de Pascual-Teresa et al., 2006).

Les diferents etapes de la digestió influeixen en l'estabilitat, l'alliberament i la distribució de les isoflavones que s'absorbeixen millor d'un suplement que de la matriu alimentària, que pot modificar-ne l'absorció (Hendrich, 2002; Rowland et al., 2003; Faughan et al., 2004). Les β -glicosidases intestinals hidrolitzen els glicòsids de

les isoflavones abans de l'absorció als enteròcits dels adults sans (Setchell et al., 2002).

En l'avaluació de la BA d'isoflavones procedents de galetes, suc de fruita i xocolata s'observa que la corresponent a les primeres és baixa ($22 \pm 14.1\%$) si es compara amb les procedents de suc de fruita ($90 \pm 12.7\%$) i de xocolata. A les galetes, l'efecte matriu (sucre/midó/proteïna) impediria l'extracció de les isoflavones (de Pascual-Teresa et al., 2006). Els valors de BA de les isoflavones difereixen dels procedents d'estudis en humans i evidencien els problemes que planteja l'extrapolació als humans dels resultats obtinguts *in vitro*. La manca de concordança es pot explicar per l'acció de la microflora intestinal sobre les isoflavones (daidzeïna) en el procés digestiu. A més, *in vivo* hi ha millor probabilitat d'interaccions entre les isoflavones alliberades i les proteïnes que *in vitro*, com passa, en general, amb tots els polifenols (Cassidy et al., 2006).

Resveratrol. El resveratrol (3, 5, 4'-trihidroxiestilbè) és un compost fenòlic del grup dels estilbens present principalment al raïm, al vi, als cacauets i derivats, on es troba lliure o com a piceid (resveratrol-3-O-glicòsid) en les respectives formes isomèriques.

Nombrosos estudis *in vitro* mostren els efectes antioxidants, antiinflamatoris i estrògenics així com les activitats anticarcinogèniques i quimiopreventives del resveratrol. La seva absorció, metabolisme i BD s'han estudiat en assaigs *in vitro*, *ex-vivo* i *in vivo*.

No és clar que en humans el resveratrol ingerit per via oral arribi als punts d'acció en dosis adequades i suficients per produir els efectes biològics observats en assaigs *in vitro*. En un estudi de l'absorció, la BD i el metabolisme del ^{14}C -resveratrol, aquest s'administra per via oral i intravenosa a sis voluntaris. Per via oral, d'una dosi de 25 mg se n'absorbeix el 70%, amb pics ($\approx 2 \text{ microM}$) de continguts de resveratrol i metabòlits al plasma i una semivida plasmàtica de $9.2 \pm 0.6 \text{ h}$. El contingut plasmàtic de resveratrol no modificat és inferior a 5 ng/ml. La major part del resveratrol administrat per via oral es recupera a l'orina. Identifiquen tres vies metabòliques: conjugació dels grups fenòlics amb sulfat i amb àcid glucurònic i hidrogenació del doble enllaç alifàtic, probablement per la microflora intestinal. La conjugació amb sulfat a l'intestí i al fetge és molt ràpida i sembla que és l'etapa limitant (Walle et al., 2005).

Per raó del ràpid i ampli metabolisme, la BD sistèmica del resveratrol és molt baixa, pràcticament zero. Per tant, els beneficis per a la salut derivats de la ingesta es deuen a l'acumulació a les cèl·lules epitelials del tracte aerodigestiu i als metabòlits biològicament actius que es formen (Wenzel i Somoza, 2005).

En un estudi recent de revisió (Cottart et al., 2010) sobre les propietats beneficioses dels resveratrol, entre altres els efectes antiinflamatoris i antitumorals, s'assenyala que els resultats dels estudis en humans són fragmentaris i a vegades contradictoris a causa de les variacions en la forma d'administració, els protocols i els mètodes d'avaluació utilitzats. Malgrat les nombroses dades sobre la BD i la toxicitat del resveratrol en humans que hi ha actualment, encara resten punts per completar i aclarir, en concret la naturalesa dels metabòlits endògens incloent-hi les propietats biològiques i la distribució en els teixits i cèl·lules. Per altra banda, el resveratrol sembla tolerar-se bé i no s'ha assenyalat cap efecte tòxic marcat.

La utilització del resveratrol obliga a estudiar l'efecte de la matriu aliment sobre la BD. Una de les avaluacions d'aquest efecte consisteix en un assaig aleatoritzat, creuat de doble via amb 24 participants sans, que inclou dos períodes consecutius de tractament separats per una fase de rentat de set o més dies. En cada un dels períodes s'administra per via oral una dosi única (400 mg) de transresveratrol seguida o bé d'un àpat ric en greix o bé de vuit hores de dejuni. Malgrat l'àmplia variabilitat interindividual en els paràmetres farmacocinètics del transresveratrol, s'observa que la presència d'aliments provoca un endarreriment en la taxa d'absorció, com mostren les concentracions plasmàtiques màximes (C_{max}) i la t_{max}, si bé el grau d'absorció avaluat per a l'AUC no es modifica de forma rellevant (Vaz da Silva et al., 2008).

Un altra qüestió que es planteja són les possibles interaccions entre compostos fenòlics quan com a resultat de la ingestió d'un àpat de composició variada que inclou diferents tipus de vegetals, a l'intestí estan presents de forma simultània diferents polifenols dels quals no se sap gaire bé si poden interaccionar, i en cas de fer-ho quines serien les conseqüències per a la BD. Per esbrinar-ho s'han fet i es continuen fent estudis. A tall d'exemple, en un que mesura l'absorció intestinal i el metabolisme esplàncnic de genisteïna, hesperitina i àcid ferúlic sols o combinats, a diferents dosis (15- 120 microM), mitjançant perfusió en intestí prim de rata i anàlisi per cromatogra-

fia líquida d'alta resolució dels polifenols al líquid procedent de la perfusió, bilis i plasma. Independentment de la quantitat perfusionada, els tres polifenols mostren una eficiència de la transferència neta a l'enteròcit similar que no es modifica de forma significativa per la presència simultània dels tres compostos. Tanmateix l'àcid ferúlic es diferencia del dos flavonoides per la baixa secreció intestinal de conjugats. La conjugació intestinal i la secreció dels conjugats al lumen intestinal varia amb la dosi de flavonoides. S'observa que la més alta satura la conjugació i això també passa si simultàniament es perfusiona una dosi alta d'un segon flavonoide. La intensitat de la secreció biliar difereix de forma substancial entre els polifenols estudiats i és menor per a l'àcid ferúlic. El grau en què té lloc el cicle enterohepàtic és proporcional a la quantitat perfusionada i no es veu afectat per la presència simultània de diferents compostos a l'intestí. En conclusió, la disponibilitat de genisteïna i hesperitina per als teixits perifèrics sembla ser menor que per a l'àcid ferúlic si es considera l'elevada secreció intestinal i biliar dels seus conjugats. A més, una ingesta alta de polifenols pot millorar la BD en saturar-se la secreció intestinal dels conjugats (Silberberg et al., 2006).

5.2.2. Fonts dietètiques de polifenols i biodisponibilitat

A continuació es comenten els resultats d'alguns estudis relatius a la BD dels polifenols de fonts usuals i també l'efecte de la matriu alimentària.

Catequines del te verd. Els resultats d'un estudi recent (Del Rio et al., 2010) indiquen que la BD de les catequines antioxidants del te verd podria ser més alta del que es pensava perquè els metabòlits de la fissió dels anells del flavan-3-ol i compostos relacionats del te verd tenen un BD d'aproximadament el 40%, o sigui uns deu cops més alta del que es creia. La majoria dels catabòlits del flavan-3-ol que s'excreten són valerolactones procedents de la fissió microbiana dels anells, amb una BD (40%) que juntament amb la presència als fluids biològics a concentracions altes, en fa més factible la bioactivitat. Malauradament no hi ha estudis sobre els efectes biològics i el fet d'estar en forma conjugada dificulta l'estudi dels potencials efectes com a agents protectors. En un dels estudis s'administra a vint persones sanes una beguda de te verd (400 µmols de flavan-3-ols) i a continuació es determinen per cromatografia líquida d'al-

ta resolució- espectrometria de masses tàndem, tots els metabòlits coneguts i algun desconegut. Identifiquen 39 compostos, dels quals l'epigallocatequina-3-galat és l'únic compost no metabolitzat i present en major concentració que els conjugats de epigallocatequina i epicatequina. Els altres components són metabolitzats pels bacteris del còlon. La variabilitat elevada en els metabòlits excretats s'atribueix a diferències en la microflora del còlon. Es confirma que si es tenen en compte els metabòlits resultants de la fissió de l'anell al còlon, la BD de les catequines del te verd és major del que es creia. La ingestió regular de begudes de te verd llestes per beure que contenen flavan-3-ols proporciona una exposició no-marginal de l'organisme a aquests catabòlits i d'alguna manera justifica les nombroses accions beneficioses atribuïdes a la ingestió d'aquest te (Del Rio et al., 2010a, b).

Polifenols del cacau/xocolata. La xocolata conté els polifenols procedents del cacau. Per avaluar si les proteïnes de la llet interaccionen amb els polifenols del cacau i modulen la captació i la concentració plasmàtica de polifenols, es fa un assaig en el qual a 24 homes i dones de mitjana edat se'ls proporciona, en dues tandes, 2 g de polifenols de xocolata, més sucre i mantega de cacau en 200 ml d'aigua. Una de les vegades hi afegeixen 2,45 g de proteïnes de làcties. Prenen mostres de sang en dejú, a intervals regulars de 8 hores i determinen els continguts de catequina i epicatequina, sense trobar diferències entre els dos tractaments. Les proteïnes làcties augmenten lleugerament la concentració dels primers punts i disminueixen la dels darrers. Per tant, la llet en pols no afecta la concentració mitjana dels polifenols si bé n'accelera lleugerament l'absorció, fet sense importància des un punt de vist fisiològic (Keogh et al., 2007).

Àcids fenòlics del cafè. Els àcids clorogènics (CGA) són derivats de l'àcid cinàmic i els efectes biològics que presenten estan relacionats principalment amb les activitats antioxidants i antiinflamatories. En la naturalesa, els principals CGA són els àcids cafeolquínic (CQA) i dicafeolquínic (diCQA) amb el cafè verd com a principal font de CQA, raó que en justifica la utilització en l'obtenció de nutracèutics, si bé la BD en humans encara no es coneix prou.

L'avaluació del perfil farmacocinètic i de la BD aparent en plasma i orina de CGA en deu adults sans, durant les 8 hores que segueixen a la ingesta d'una beguda de cafè verd descafeïnat (170 mg de CGA) mostra que: el plasma conté tres CQA, tres diCQA i els

àcids cafeic, ferúlic, isoferúlic i *p*-cumàric, identificats per CLAR (detecció diode array)-MS. Al plasma hi ha més del 30% de l'àcid cinàmic ingerit, metabòlits inclosos, amb màxims entre les 0,5 i les 8 h de tractament. Al finalitzar el tractament s'identifiquen en l'orina 4-CQA, 5-CQA, i els àcids sinàpic, *p*-hidroxibenzoic, gàl·lic, vainílic, dihidrocafeic, cafeic, fèrulic, isofèrulic, i *p*-cumàric, en uns continguts equivalents a la recuperació en orina del $5,5 \pm 10,6\%$ dels àcids cinàmic i quínic ingerits. Es confirma que els humans absorbeixen i metabolitzen bé els principals components del CGA del cafè verd (Farra et al., 2009).

Per confirmar o rebatre la hipòtesi segons la qual l'addició al cafè instantani de llet sencera o sucre i succedani no lacti de crema modularia la BD dels compostos fenòlics del cafè (àcids cafeic, ferúlic i poliferúlic), fan un estudi en nou persones sanes, edat mitjana 33,7 anys, a les quals en un assaig de disseny creuat i de forma aleatòria se'ls assigna cafè soluble, cafè soluble amb llet sencera (10%) o cafè soluble amb sucre i succedani no lacti de crema. Les tres begudes proporcionen la mateixa quantitat d'antioxidants (332 mg expressats en àcid clorogènic). Prenen mostres de sang a les 12 hores de la ingestió, hidrolitzen els conjugats dels àcids clorogènics i determinen els continguts equivalents dels àcids cafeic, ferúlic i isoferúlic. En comparació amb el cafè negre instantani habitual, l'addició de llet no modifica de forma significativa l'àrea sota la corba (AUC), la concentració plasmàtica màxima (C_{max}) ni el temps necessari per assolir-la (T_{max}). Les C_{max} dels àcids cafeic i isoferúlic són significativament menors i els T_{max} d'àcid ferúlic i isoferúlic significativament més alts per al grup sucre/succedani no lacti de crema que per al grup del cafè. Tampoc les AUC difereixen de forma significativa. Per tant l'addició de llet sencera al cafè soluble no modifica el contingut d'àcids fenòlics del cafè ni en disminueix la BD, mentre que el sucre i el succedani de crema no lacti afecten la T_{max} i la C_{max} sense modificar l'aparició del fenols del cafè en el plasma, dada que suggereix una modulació de la BD si bé finalment s'assoleixen els mateixos continguts de compostos fenòlics en sang (Renouf et al., 2010).

Beguda a base de suc de fruita enriquida amb polifenols. Per proporcionar una quantitat addicional de polifenols a la dieta es prepara una beguda a base de suc de fruita enriquida amb polifenols. Per avaluar la BD dels components es fa un assaig en el qual s'adminis-

tra a deu voluntaris 350 ml de la beguda després de dos dies d'una dieta pobra en flavonoides. A continuació prenen mostres de plasma i d'orina de 24h i determinen els polifenols per cromatografia líquida d'alta resolució- detector de diode-detector de masses. La farmacocinètica al plasma i les recuperacions en orina del metabòlits de flavan-3-ols, flavanones, dihidrocalcones i àcid 5-O-cafeolquínic, són en la majoria dels casos qualitativament i quantitativament similars a les mencionades en estudis similar amb te verd, suc de taronja, sidra i cafè. Això indica que els compostos polifenòlics de la beguda s'absorbeixen i s'excreten en un grau similar si s'administren de forma individual i conjunta. La beguda és per tant font de polifenols biodisponibles l'obtenció dels quals requereix la ingesta de diferents vegetals (Borges et al., 2010).

5.3. Altres

Hi ha molts altres compostos bioactius que també reclamen l'atenció, però incloure'ls en aquest document requeriria molt més espai del que és habitual. No obstant això, sembla interessant comentar un grup de substàncies, els anomenats pèptids bioactius que a més d'exercir un efecte potenciador de la BD mineral tenen d'altres activitats biològiques observades en la majoria dels casos en assaigs *in vitro* fets amb pèptids isolats.

En els estudis *in vitro* s'han avaluat els efectes estimulador o inhibidor dels pèptids sobre proteïnes diana i sovint aquests efectes s'han esgrimit per justificar l'estudi *in vivo* d'aquests compostos. Aquest plantejament té un defecte intrínsec, negligeix la baixa absorció, distribució, metabolisme i excreció dels pèptids i la seva baixa BD. Per altra banda i atès que els peptids s'hidrolitzen fàcilment al tracte gastrointestinal per acció de les peptidases de l'estómac, de l'intestí prim i de la vora en raspall, la majoria dels pèptids s'hidrolitzen abans d'arribar al duodè i al jejú on s'absorbeixen. Un plantejament correcte dels estudis ha d'incloure la demostració de l'estabilitat del pèptid davant de les peptidases del lumen i de la vora en raspall i l'avaluació d'absorció, distribució, metabolisme i excreció.

Tampoc hi ha gaire estudis en animals i humans que determinin les concentracions absolutes i les cinètiques dels pèptids bioactius, si

bé els publicats mostren la presència al plasma de pèptids a concentracions picomolars i nanomolars amb una eliminació ràpida (Foltz et al., 2010).

Per avaluar l'estabilitat dels caseïnofosfopeptids (CPP) en el tracte gastrointestinal es fa una digestió gastrointestinal simulada d'una beguda a base de fruita i llet. Al mateix temps s'estudia la resistència a la hidròlisi d'una mescla de CPP afegits a la beguda. S'identifiquen quatre CPP a la beguda sense addició l'origen dels quals s'atribueix a la presència de llet crua o al processat. En el digerit gastrointestinal s'identifiquen deu CPP, dels que només un presenta el clúster (SpSpSpEE) (grup de tres fosfoseril seguits de dos residus d'àcid glutàmic), que correspon a l'alfa(s2)-CN(1-19)4P. Els CPP afegits a la beguda resisteixen la digestió simulada si bé s'identifiquen 16 CPP procedents de la fragmentació dels CPP afegits, amb una major presència del clúster si es pren com a referència els CPP de la beguda a base de fruita i llet. Aquests resultats justifiquen la utilització de CPP com a ingredients funcionals i ofereixen una bona possibilitat perquè les begudes a base de fruita i llet contribueixin a la millora de la BD mineral (García-Nebot et al., 2010).

6. Comentarís finals

La revisió precedent, que no pretén ser exhaustiva, vol fer palès l'interès i l'actualitat de l'estudi de la biodisponibilitat dels nutrients i altres components bioactius dels aliments.

El fil conductor de la revisió és la biodisponibilitat dels nutrients i dels compostos bioactius dels aliments que està al punt de confluència de tres matèries: química dels aliments, nutrició i tecnologia dels aliments. A la química li interessen els continguts de nutrients i altres compostos dels aliments; a la nutrició, el destí i la utilització d'aquests compostos en l'organisme; mentre que un dels objectius de la tecnologia dels aliments és mantenir el contingut de nutrients i fer-los més biodisponibles a l'organisme.

El progrés en el coneixement i la millora en la disponibilitat d'aliments per la població ha canviat els objectius de l'alimentació. Aquest fet obliga a replantejar les recomanacions dietètiques i la

transformació dels requeriments en recomanacions dietètiques útils per la població fa necessari conèixer la biodisponibilitat dels nutrients. Al mateix temps cal conèixer la biodisponibilitat per avaluar el risc derivat de la presència d'un tòxic en un aliment. I, igualment per poder extrapolar als humans les activitats biològiques de compostos actius evidenciades mitjançant assaigs *in vitro* als possibles efectes *in vivo*.

Es constata la confusió existent en la utilització de la terminologia, així, sovint es parla de biodisponibilitat quan en realitat el que s'estima és la bioaccessibilitat i, per altra banda s'assenyalen les dificultats que comporta l'avaluació de la bioeficàcia.

Pel que fa als mètodes de determinació és fonamental saber els avantatges i els inconvenients de cada un dels tipus (*in vivo* i *in vitro*) així com les possibilitats i les limitacions que presenten. Si bé els resultats d'estudis en humans es consideren els de referència, un disseny no adequat o una mostra massa petita en redueixen la validesa. Avui semblen bastant clars els beneficis i les limitacions dels sistemes o models *in vitro* que amb el temps han millorat i s'han perfeccionat i no es limiten a mesurar la bioaccessibilitat sinó que la incorporació de cultius cel·lulars permet d'estimar-ne la captació i el transport. Les principals aplicacions són: el cribratge, ja sigui per ordenar els nutrients en funció de la biodisponibilitat/bioaccessibilitat o per determinar l'interès d'un assaig *in vivo* i l'estudi dels components de la matriu aliment que poden influir-hi. Cal destacar que l'aplicació d'aquests models requereix destresa i instal·lacions adequades.

D'entre els nutrients minoritaris d'interès s'han seleccionat el ferro i el zinc per l'àmplia distribució de les deficiències i els efectes que tenen en el creixement i el desenvolupament. Els estudis ressalten la importància de la composició de la dieta en la biodisponibilitat pel paper destacat que juguen els potenciadors en el cas del ferro i els inhibidors en el del zinc, de manera que per assolir bons resultats no n'hi ha prou amb enriquir els aliments, cal modificar la dieta per augmentar el contingut de potenciadors o reduir el d'inhibidors. La proposta de fonts alternatives de ferro i de noves formes de presentació (encapsulació i nanoestructurats) indica que l'enriquiment en aquest mineral segueix plantejant limitacions a la indústria

alimentària pels problemes tecnològics que l'addició planteja i als responsables de les polítiques alimentàries per la manca d'eficàcia.

Arsènic i mercuri són els dos elements tòxics que es troben en diferents formes químiques en els aliments i que difereixen en biodisponibilitat i toxicitat, raó que justifica l'especiació i l'avaluació de la toxicitat del mercuri procedent del peix.

L'última part de la revisió s'ha dedicat als compostos bioactius dels aliments dels quals s'han seleccionat carotenoides i polifenols. L'interès per l'estudi de la biodisponibilitat d'aquests compostos deriva del seu ús en la indústria alimentària en el desenvolupament d'aliments funcionals que en els darrers anys ha experimentat un increment extraordinari. Per altra banda hi ha la necessitat de fonamentar les declaracions de salut. En el cas dels carotenoides es mostra la diferència en la biodisponibilitat d'un mateix carotenoide segons la font de procedència i el paper del processat dels aliments en la millora de la biodisponibilitat. El camp dels polifenols és extraordinàriament ampli i són de destacar el paper de la microbiota intestinal en la seva metabolització i la importància dels metabòlits en l'acció d'aquests, fets que fan reconsiderar les avaluacions prèvies de biodisponibilitat d'aquest tipus de compostos.

Per acabar únicament assenyalar que queden encara molts aspectes per aclarir amb relació a la biodisponibilitat, cosa que permet suposar que es tracta d'una àrea de recerca amb força camp per córrer.

7. Bibliografia

- Aherne SA, O'Brien NM. Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism. *Nutrition* 2002; 18:75–81.
- Alegría A, Barberá R, Lagarda MJ, Farré R (2006). Biodisponibilidad de sustancias tóxicas en los alimentos. En: *Toxicología Alimentaria* (Cameán AM, Repetto M, ed), Ed. Díaz de Santos, Madrid, pp. 61-76.
- Almela C, Algora S, Benito V, Clemente MJ, Devesa V, Suñer MA, Velez D, Montoro R. Heavy metal, total arsenic and inorganic arsenic contents of algae food products. *J. Agric Food Chem* 2002; 50: 918-23.

- Almela C, Laparra JM, Vélez D, Barberá R, Farré R, Montoro R. Arsenosugars in raw and cooked edible seaweed; Characterization and bioaccessibility. *J Agric Food Chem* 2005, 53, 7344-51.
- Argyri K, Miller DD, Glahn RP, Zhu L, Kapsokafalou M. Peptides isolated from *in vitro* digests of milk enhance iron uptake by Caco-2 cells. *J Agric Food Chem*. 2007; 55: 10221-5
- Armah CN, Sharp P, Melon FA, Pariagh S, Lund EK, Dainty JR, Teucher B, Faireather-Tait SJ. L-alpha-glycerophosphocholine contributes to meat's enhancement of nonheme iron absorption. *J Nutr* 2008; 138:873-7.
- Arscott SA, Tanumihardjo SA. Carrots of many colors provide basic nutrition and bioavailable phytochemicals acting as a functional food. *Comprehensive Review in Food Science and Safety* 2010; 9: 223-39.
- Arscott SA, Simon PW, Tanumihardjo SA. Anthocyanins in purple–orange carrots (*Daucus carota* L.) Do not influence the bioavailability of β -Carotene in young women. *J Agric Food Chem*. 2010; 58: 2877-81.
- Balasundram N, Sundram K, Samman S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem* 2006; 99:191–203.
- Beard JL. Why iron deficiency is important in infant development. *J Nutr* 2008; 138:2534-6.
- Benito P, Miller D. Iron absorption and bioavailability: an updated review. *Nutr Res* 1998; 18:581-603.
- Bermúdez-Soto MJ, Tomás-Barberán FA, García-Conesa MT. Stability of polyphenols in chokeberry (*Aronia melanocarpa*) subjected to *in vitro* gastric and pancreatic digestion. *Food Chem* 2007; 102:865–74.
- Birt DF, Hendrich S, Wang WQ. Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavonoids. *Pharmacol Therapeut* 2001; 90:157-77.
- Boato F, Wortley GM, Liu RH, Glahn RP. Red grape juice inhibits iron availability: Application of an *in vitro* digestion/ Caco-2 cell model. *J Agric Food Chem*. 2002; 50: 6935-38.
- Borel P, Draï J, Faure H, Fayol V, Gelabert C, Laromiquière M, Le Moël G. Données récentes sur l'absorption et le catabolisme des caroténoïdes. *Ann Biol Clin* 2005; 63: 165-77.
- Borges G, Mullen W, Mullan A, Lean ME, Roberts SA, Crozier A. Bioavailability of multiple components following acute ingestion

- of a polyphenol-rich juice drink. *Mol Nutr Food Res* 2010 Jun 2. [Epub ahead of print]. doi: 10.1002/mnfr.200900611
- Boyer J, Liu RH. Apple phytochemicals and their health benefits. *Nutr J* 2004; 3:5.
 - Cassidy A, Brown JE, Hawdon A, Faughnan MS, King LJ, Millward J, Zimmer-Nechemias L, Wolfe B, Setchell KD. Factors affecting the bioavailability of soy isoflavones in humans after ingestion of physiologically relevant levels from different soy foods. *J Nutr* 2006; 136:45-51.
 - Caussy D. Case studies of the impact of understanding bioavailable arsenic. *Ecotox Environ Safe*. 2003; 56: 164-73.
 - Cottart CH, Nivet-Antoine V, Laquillier-Morizot C., Beaudoux JL, Resveratrol bioavailability and toxicity in humans. *Mol Nutr Food Res* 2010;54:7-16.
 - Crozier A, Jaganath IB, Clifford MN, Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Nat Prod Rep* 2009; 26: 1001-43.
 - Chung H-Y, Rasmussen HM, Johnson EJ. Lutein bioavailability is higher from lutein-enriched eggs than from supplements and spinach in men. *J Nutr* 2004; 134:1887-93.
 - Davidsson L, Ziegler E, Zeder C, Walczyk T, Hurrell R. Sodium iron EDTA NaFe(III)EDTA as a food fortificant: erythrocyte incorporation of iron and apparent absorption of zinc, copper, calcium, and magnesium from a complementary food based on wheat and soy in healthy infants. *Am J Clin Nutr* 2005; 81: 104-9.
 - De Pascual-Teresa S, Hallund J, Talbot D, Schroot J, Williams CM, Bugel S, Cassidy A. Absorption of isoflavones in humans: effects of food matrix and processing. *J Nutr Biochem* 2006; 17:257-64.
 - Del Rio D, Calani L, Cordero C, Salvatore S, Pellegrini N, Brighenti F. Bioavailability and catabolism of green tea flavan-3-ols in humans. *Nutrition*, published online ahead of print, doi: 10.1016/j.nut.2009.09.021.
 - Del Rio D, Calan L, Scazzina F, Jechiu L, Cordero C, Brighenti F. Bioavailability of catechins from ready to drink tea. *Nutrition* 2010b; 26:528-533.
 - Edwards AJ, Nguyen CH, You CS, Swanson JE, Emenhiser C, Parker PS. Alpha and beta-carotene from a commercial puree are more bioavailable to humans than from boiled-mashed carrots, as determined using an extrinsic stable isotope reference method. *J Nutr* 2002; 132:159-67.
 - EFSA (2005). Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to

- arsenic as undesirable substance in animal feed. *EFSA Journal* 2005;180:1- 35.
- EFSA (2009). Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM), Scientific Opinion on Arsenic in Food. *EFSA Journal* 2009 7:1351 (198 pp.) Disponible en: www.efsa.europa.eu
 - EFSA (2010). Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS). Scientific Opinion on the use of ferric sodium EDTA as a source of iron added for nutritional purposes to foods for the general population (including food supplements) and to foods for particular nutritional uses. *EFSA Journal* 2010; 8:1414
 - Ekmekcioglu CA. Physiological approach for preparing and conducting intestinal bioavailability studies using experimental systems. *Food Chem* 2002; 76: 225 -30.
 - Etcheverry P, Hawthorne KM, Liang LK, Abrams SA, Griffin IJ Effect of beef and soy proteins on the absorption of non-heme iron and inorganic zinc in children. *J Am Coll Nutr* 2006;25:34-40.
 - EU 1924/2006. Reglamento (CE) No 1924/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo de 20 de diciembre de 2006 relativo a las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables en los alimentos. *Diario Oficial de la Unión Europea* 30-12-2006 L 404/9.
 - Failla ML, Huo T, Thakkar SK. In vitro screening of relative bioaccessibility of carotenoids from foods. *Asia Pac J Clin Nutr* 2008;17 Suppl 1:200-3.
 - Fairweather-Tait SJ. Bioavailability of nutrients. In: Macrae R., Robinson RK, Sadler MJ, editors. *Encyclopaedia of food science, food technology and nutrition*. London: Academic Press; 1993. p. 384-8.
 - Fairweather-Tait SJ, Lynch S, Hotz C, Hurrell R, Abrahamse L, Beebe S, Bering S, Bukhave K, Glahn R, Hambidge M, Hunt J, Lonnerdal B, Miller D, Mohktar N, Nestel P, Reddy M, Sandberg AS, Sharp P, Teucher B, Trinidad Trinidad P. The usefulness of in vitro models to predict the bioavailability of iron and zinc: A consensus statement from the HarvestPlus expert consultation. *Int J Vitam Nutr Res* 2005; 75: 371-4.
 - Farra A, Monteiro M, Donangelo CM, Lafay S. Chlorogenic acids from green coffee extract are highly bioavailable in humans *J Nutr* 2009; 138: 2309-15.
 - Faughnan MS, Hawdon A, Ah-Singh E, Brown J, Millward DJ, Cassidy A. Urinary isoflavone kinetics: the effect of age, gender, food matrix and chemical composition. *Brit J Nutr* 2004; 91:567- 74.

- Faulks RM, Southon S. Challenges to understanding and measuring carotenoid bioavailability. *Biochim Biophys Acta* 2005; 30:95-100.
- Fernández-García E, Carvajal-Lérida I, Pérez-Gálvez A. In vitro bioaccessibility assessment as a prediction tool of nutritional efficiency. *Nutrition Research* 2009; 29: 751-60.
- Foltz M, van der Pijl PC, Duchatea GSMJE. Current in vitro testing of bioactive peptides is not valuable. *J. Nutr* 2010; 140:117-18.
- García OP, Long KZ, Rosado JL. Impact of micronutrient deficiencies on obesity. *Nutr Rev.* 2009; 67:559-72.
- García Nebot MJ, Alegría A, Barberá R, Contreras MM, Recio IMilk versus caseinophosphopeptides added to fruit beverage: resistance and release from simulated gastrointestinal digestion. *Peptides* 2010; 31: 555-61
- Gautam CS, Saha L, Sekhri K, Saha PK. Iron deficiency in pregnancy and the rationality of iron supplements prescribed during pregnancy. *Medscape J Med.* 2008;10: 283.
- Gibson RS. The role of diet- and host-related factors in nutrient bioavailability and thus in nutrient-based dietary requirement estimates. *Food Nutr Bull* 2007; 28(1 Suppl International):S77-100.
- Gibson RS, Hess SY, Hotz C, Brown KH. Indicators of zinc status at the population level: a review of the evidence. *Br J Nutr* 2008; 99 Suppl 3:S14-23.
- Granado-Lorencio F, Herrero-Barbudo C, Blanco-Navarro I, Pérez-Sacristán B, Olmedilla Alonso B. Bioavailability of carotenoids and alpha-tocopherol from fruit juices in the presence of absorption modifiers: in vitro and in vivo assessment. *Br J Nutr* 2009;101(4):576-82.
- Granado-Lorencio F, Herrero-Barbudo C, Olmedilla Alonso B Blanco-Navarro I, Pérez-Sacristán B. Lutein bioavailability from lutein ester-fortified fermented milk: in vivo and in vitro study. *J Nutr Biochem* 2010; 21: 133-9.
- Hambidge KM, Miller LV, Westcott JE, Krebs NF. Dietary reference intakes for zinc may require adjustment for phytate intake based upon model predictions. *J Nutr* 2008;138:2363-6.
- Heacock PM, Hertzler SR, Wolf B. The glycemic, insulinemic, and breath hydrogen responses in humans to a food starch esterified by 1-octenyl succinic anhydride. *Nutr Res* 2004; 24:581- 92.

- Hedren E, Mulokozi G, Svanberg U. *In vitro* accessibility of carotenes from green leafy vegetables cooked with sunflower oil or red palm oil. *Int J Food Sci Nutr* 2002; 53:445- 53.
- Hendrich S. Bioavailability of isoflavones. *J Chromatogr B* 2002; 777:203- 10.
- Hercberg S, Preziosi P, Galan P. Iron deficiency in Europe. *Public Health Nutr.* 2001, 4(2B):537-45.
- Hess SY, Brown KH. Impact of zinc fortification on zinc nutrition. *Food and Nutrition Bulletin* 2009; 30 (1 SUPPL): S79-S107.
- Hidalgo IJ, Raub TJ, Borchard RT. Characterization of the human colon carcinoma cell line (Caco-2) as a model system for intestinal epithelial permeability. *Gastroenterol* 1989; 96: 736-49.
- Hilty FM, Teleki A, Krumeich F, Büchel R, Hurrell RF, Pratsinis SE, Zimmerman MB. Development and optimization of iron- and zinc-containing nanostructured powders for nutritional applications. *Nanotechnology* 2009;20:475101.
- Hoppe M, Hulthén L, Hallberg L. The importance of bioavailability of dietary iron in relation to the expected effect from iron fortification. *Eur J Clin Nutr.* 2008;62(6):761-9.
- Hotz C. Evidence for the usefulness of *in vitro* dialyzability, Caco-2 cell models, animal models and algorithms to predict zinc bioavailability in humans. *Int J Vitam Nutr Res* 2005; 75, 423-35.
- Hotz C, Gibson RS. Traditional food-processing and preparation practices to enhance the bioavailability of micronutrients in plant-based diets. *J Nutr.* 2007; 137:1097-100
- Hunt JR. Bioavailability of iron, zinc, and other trace minerals from vegetarian diets. *Am J Clin Nutr* 2003 Sep;78(3 Suppl):633S-9S.
- Hunt JR, Beiseigel JM, Johnson LK. Adaptation in human zinc absorption as influenced by dietary zinc and bioavailability. *Am J Clin Nutr.* 2008; 87: 1336-45.
- Hunt JR, Beiseigel JM. Dietary calcium does not exacerbate phytate inhibition of zinc absorption by women from conventional diets *Am J Clin Nutr* 2009; 89: 839-843.
- Hurrell RF. Influence of vegetable protein sources on trace element and mineral bioavailability. *J Nutr.* 2003; 133:2973S-77S.
- Hurrell RF, Reddy MB, Juillerat M, Cook JD. Meat Protein fractions enhance nonheme iron absorption in humans. *J Nutr* 2006;136:2808-12.
- Hurrell R, Egli I. Iron bioavailability and dietary reference values. *Am J Clin Nutr* 2010; 91:1461S-67S.

- Jin F, Frohman C, Thannhauser TW, Welch RM, Glahn RP. Effects of ascorbic acid, phytic acid and tannic acid on iron bioavailability from reconstituted ferritin measured by an *in vitro* digestion-Caco-2 cell model. *Br J Nutr.* 2009;101(7):972-81.
- Jyothi Lakshmi A, Gupta S, Prakash J. Comparative analysis of influence of promoters and inhibitors on *in vitro* available iron using two methods. *Int J Food Sci Nutr* 2006; 57: 559-69.
- Keogh JB, Mcinerney J, Clifton PM. The effect of milk protein on the bioavailability of cocoa polyphenols. *J Food Sci* 2007; 72:230-3
- Krebs NF. Bioavailability of dietary supplements and impact of physiologic state: Infants, children and adolescents *J Nutr.* 2001;131:1351S-4S.
- Laird BD, Shade C, Gantner N, Chan HM, Siciliano SD. Bioaccessibility of mercury from traditional northern country foods measured using an *in vitro* gastrointestinal model is independent of mercury concentration. *Sci Total Environ.* 2009;407: 6003-8.
- Laparra JM, Vélez D, Barberá R, Montoro R, Farré R. Bioaccessibility and transport by Caco-2 cells of organoarsenical species present in seafood. *J Agric Food Chem* 2007; 55:5892-97.
- Laparra JM, Barberá R, Alegría A, Glahn RP, Miller DD. Purified glycosaminoglycans from cooked haddock may enhance Fe uptake via endocytosis in a Caco-2 cell culture model. *J Food Sci* 2009; 74:H168-73.
- Laparra JM, Vélez D, Montoro R, Barberá R, Farré R (2009b). Bioavailability of arsenic species in food: practical aspects for human health risk assessments. Chapter 13 en *Arsenic in the Environment*, Vol 1 pp 319-325. CRC Press Taylor and Francis. London.
- Laurent C, Besançon P, Caporiccio B. Flavonoids from a grape seed extract interact with digestive secretions and intestinal cells as assessed in an *in vitro* digestion/Caco-2 cell culture model. *Food Chem* 2007; 100:1704-12.
- Livny O, Reifen R, Levy I, Madar Z, Faulks R, Southon S, Schwartz B. Beta-carotene bioavailability from differently processed carrot meals in human ileostomy volunteers. *Eur J Nutr.* 2003; 42:338-45.
- Llobet JM; Falcó G, Casas C; Teixidó A; Domingo JL. Concentrations of arsenic, cadmium, mercury, and lead in common foods and estimated daily intake by children, adolescents, adults, and seniors of Catalonia, Spain. *J Agric Food Chem* 2003; 51:838-42.
- Lönnerdal B. Dietary factors influencing zinc absorption. *J Nutr.* 2000;130(5S Suppl):1378S-83S.

- Lönnerdal B, Bryant A, Liu X, Theil EC. Iron absorption from soybean ferritin in nonanemic women. *Am J Clin Nutr* 2006; 83:103-7.
- Lönnerdal B. The importance and bioavailability of phytoferritin-bound iron in cereals and legume foods. *Int J Vitam Nutr Res* 2007; 77:152-7.
- Lönnerdal B. Soybean ferritin: implications for iron status of vegetarians. *Am J Clin Nutr* 2009;89:1680S-5S.
- Luten J, Crews H, Flynn A, Van Dael P, Kastenmayer P, Hurrell R, Deelstra H, Shen Li-Hua, Fairweather-Tait S, Hickson K, Farré R, Schlemmer U, Frohlich W. Interlaboratory trial on the determination of the in vitro iron dialisability from food. *J Sci Food Agric* 1996;72: 415-24.
- Lynch SR, Bothwell T. SUSTAIN Task force on iron powders. A comparison of physical properties, screening procedures and a human efficacy trial for predicting the bioavailability of commercial elemental iron powders used for food fortification. *Int J Vitam Nutr Res* 2007; 77(2):107-24.
- Manach C, Williamson G., Morand C, Scalbert A, Rémésy C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *Am J Clin Nutr* 2005; 2005;81(1 Suppl):230S-42S.
- Miller DD, Schricker BR, Rasmussen BS, Van Campen D. An in vitro method for estimation of iron availability from meals. *Am J Clin Nutr* 1981; 34: 2248-56.
- Miret S, Tascioglu S, van der Burg M, Frenken L, Klaffke W. In vitro bioavailability of iron from the heme analogue sodium iron chlorophyllin. *J Agric Food Chem* 2010; 58:1327-32.
- Muñoz M, Villar I, García- Erce JA. An update on iron physiology. *World J Gastroenterol* 2009;15:4617-26.
- Moeller SM, Jacques PF, Blumberg JB. The potential role of dietary xanthophylls in cataract and age-related macular degeneration. *J Am Coll Nutr* 2000; 19(5 Suppl): 522S-7S.
- Murphy PA, Hendrich S. Bioavailability counts. Posted on March 11, 2010 by ePerspective. <http://foodtecheperspective.wordpress.com/2010/03/11/bioavailability-counts/>
- Murray-Kolb LE, Welch R, Theil EC, Beard JL. Women with low iron stores absorb iron from soybeans. *Am J Clin Nutr.* 2003;77:180-4.

- Oldewage-Theron WH, Samuel FO, Venter CS. Zinc deficiency among the elderly attending a care centre in Sharpeville, South Africa. *J Hum Nutr Diet* 2008; 21: 566-74.
- Olivares M, Pizarro F, Ruz M. Zinc inhibits nonheme iron bioavailability in humans *Biol Trace Elem Res* 2007; 117: 7-14.
- Olivares M, Pizarro F, Gaitán D, Ruz M. Acute inhibition of iron absorption by zinc *Nutrition Research* 2007a; 27: 279-82.
- Olivares M, Pizarro F, Ruz M. New insights about iron bioavailability inhibition by zinc. *Nutrition* 2007b; 23; 292-5.
- OMS (2008). Organización Mundial de la Salud. Guidance for identifying populations at risk from mercury exposure. Issued by UNEP DTIE Chemicals Branch and WHO Department of Food Safety, Zoonoses and Foodborne Disease. Geneva. Disponible en: <http://www.who.int/foodsafety/publications/chem/mercuryexposure.pdf>.
- Parada J, Aguilera JM. Food microstructure affects the bioavailability of several nutrients. *J Food Sci* 2007;72:R21-32.
- Pérez Gálvez A, Martín HD, Sies H, Stahl W. Incorporation of carotenoids from paprika oleoresin into human chylomicrons. *Br J Nutr* 2003; 89:787-93.
- Renouf M, Marmet C, Guy P, Fraering AL, Longet K, Moulin J, Enslin M, Barron D, Cavin C, Dionisi F, Rezzi S, Kochhar S, Steiling H, Williamson G. Nondairy creamer, but not milk, delays the appearance of coffee phenolic acid equivalents in human plasma. *J Nutr* 2010; 140:259-63.
- Richelle M, Bortlik K, Liardet S, Hager C, Lambelet P, Baur M, Applegate LA, Offord EA. A food-based formulation provides lycopene with the same bioavailability to humans as that from tomato paste. *J Nutr* 2002; 132:404- 8.
- Rickard AP, Chatfield MD, Conway RE, Stepien AM, Powell JJ. An algorithm to assess intestinal iron availability for use in dietary surveys. *Br J Nutr* 2009; 102:1678-85.
- Rock CL, Lovalvo JL, Emenhiser C, Ruffin MT, Flatt SW, Schwartz SJ Bioavailability of beta-carotene is lower in raw than in processed carrots and spinach in women. *J Nutr*. 1998; 28:913-6.
- Ross JA, Kasum CM. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annu Rev Nutr*. 2002;22:19-34.
- Rowland I, Faughnan M, Hoey L, Wähälä K, Williamson G, Cassidy A. Bioavailability of phyto-estrogens. *Brit J Nutr* 2003; 89:S45–S58.
- Sandberg AS. Methods and options for in vitro dialyzability; Benefits and limitations. *Int J Vitam Nutr Res* 2005; 75, 395-404.

- Sayago A, Cameán AM, Repetto M, Asuero AG (2006). Importancia de la especiación de elementos en Toxicología Alimentaria. En: Toxicología Alimentaria (Cameán AM, Repetto Eds), Ed. Díaz de Santos, Madrid, pp. 327-48.
- Scalbert A, Williamson G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J Nutr* 2000; 130:2073S–85S.
- Sharp P. Methods and options for estimating iron and zinc bioavailability using Caco-2 cell models: Benefits and limitations. *Int J Vitam Nutr Res* 2005; 75: 413 – 21.
- Setchell KD, Cassidy A. Dietary isoflavones: biological effects and relevance to human health. *J Nutr* 1999; 129:758- 67.
- Setchell KD, Brown NM, Zimmer-Nechemias L, Brashear WT, Wolfe BE, Kirschner AS, Heubi JE. Evidence for lack of absorption of soy isoflavone glycosides in humans, supporting the crucial role of intestinal metabolism for bioavailability. *Am J Clin Nutr* 2002; 76:447-53.
- Silberberg M, Morand C, Mathevon T, Besson C, Manach C, Scalbert A, Remesy C. The bioavailability of polyphenols is highly governed by the capacity of the intestine and of the liver to secrete conjugated metabolites. *Eur J Nutr*. 2006;45:88- 96.
- Shi J, Le Maguer M. Lycopene in tomatoes: chemical and physical properties affected by food processing. *Crit Rev Biotechnol* 2000; 20:293- 334.
- Stewart AJ, Bozonnet S, Mullen W, Jenkins GI, Lean ME, Crozier A. Occurrence of flavonols in tomatoes and tomato-based products. *J Agr Food Chem* 2000; 48:2663- 9.
- Stringham JM, Hammond BR jr. Dietary lutein and zeaxanthin: possible effects on visual function. *Nut Rev*. 2005, 63: 59-64.
- Suñer MA, Devesa V, Clemente MJ, Velez D, Montoro R, Urieta I, Jalon M, Macho ML. Organoarsenical species contents in fresh and processed seafood products. *J Agric Food Chem*. 2002; 50: 924-32.
- Theil EC. Iron, ferritin, and nutrition. *Annu Rev Nutr* 2004; 24: 327-43.
- Thompson B, Sharp P, Elliott R, Al-Mutairi S, Fairweather-Tait SJ. Development of a Modified Caco-2 Cell Model System for Studying Iron Availability in Eggs *J. Agric. Food Chem*. 2010, Article ASAP DOI: 10.1021/jf904175d
- Tuerk MJ, Fazel N. Zinc deficiency. *Curr Opin Gastroenterol* 2009; 25:136-43.

- van de Wiel A, van Golde PH, Hart HC.. Blessings of the grape. *Eur J Intern Med* 2001;2:484-9.
- van het Hof KH, de Boer BCJ, Tijburg LBM, Lucius BR, Zijp I, West CE, Hautvast JG, Weststrate JA. Carotenoid bioavailability in humans from tomatoes processed in different ways determined from the carotenoid response in the triglyceride-rich lipoprotein fraction of plasma after a single consumption and in plasma after four days of consumption . *J Nutr* 2000a;130:1189-96.
- van het Hof KH, West CE, Weststrate JA, Hautvast JG. Dietary factors that affect the bioavailability of carotenoids. *J Nutr* 2000b;130:503-6.
- Vaz da Silva M, Loureiro AI, Falco A, Nunes T, Rocha JF, Fernandes-Lopes C, Soares E, Wright L, Almeida L, Soares-da-Silva P. Effect of food on the pharmacokinetic profile of trans-resveratrol. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 2008;46:564-70.
- Walle T, Hsieh F, De Legge MH, Oats JE jr, Walle UK. High absorption but very low bioavailability of oral resveratrol in humans. *Drug Metab Dispos* 2004;32:1377-82.
- Wenzel E, Somoza V. Metabolism and bioavailability of trans-resveratrol. *Mol Nutr Food Res* 2005;49:472-81.
- Verwei M, Arkbäge K, Groten JP, Witthöft C, van den Berg H, Havenaar R. The effect of folate-binding proteins on bioavailability of folate from milk products. *Trends Food Sci Tech* 2005;16:307- 10.
- Wienk KJH, Marx JJM, Beynen AC The concept of iron bioavailability and its assessment. *Eur J Nutr* 1999; 38:51–75.
- Williamson G, Manach C, Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. II. Review of 93 intervention studies. *Am J Clin Nutr* 2005;81(1 Suppl):243S-55S.
- Williamson G, Holst B. Dietary reference intake (DRI) value for dietary polyphenols: Are we heading in the right direction?. *BrJ Nutr* 2008; 99 (SUPPL. 3): S55-8.
- Yeum K, Russell RM. Carotenoid bioavailability and bioconversion. *Annu Rev Nutr* 2002; 22:483- 504.
- Yeung CK, Glahn RE, Welch RM, Miller DD. Prebiotics and iron bioavailability- Is there a connection? *J Food Sci* 2005; 70: R88-R89.
- Yonekura L, Nagao A. Intestinal absorption of dietary carotenoids. *Mol Nutr Food Res* 2007; 51:107-15.
- Ysart G, Miller P, Crews H, Robb P, Baxter M, De L'Argy C, Loft-house S, Sargent C, Harrison N. Dietary exposure estimates of 30

- elements from the UK total diet study. *Food Addit. Contam.* 1999; 16: 391-403.
- Yun S, Habicht JP, Miller DD, Glahn RP. An in vitro digestion/Caco-2 cell culture system accurately predicts the effects of ascorbic acid and polyphenolic compounds on iron bioavailability in humans. *J Nutr* 2004;134:2717-21.
 - Zhang Y, Song TT, Cunnick JE, Murphy PA, Hendrich S. Daidzein and genistein glucuronides in vitro are weakly estrogenic and activate human natural killer cells in nutritionally relevant concentrations. *J Nutr* 1999; 129: 399-405.
 - Zhang Y, Murphy PA, Hendrich S. Glucuronides are the main isoflavone metabolites in women. *J Nutr* 2003; 133: 399-404.
 - Zhu L, Glahn RP, Nelson D, Miller DD. Comparing soluble ferric pyrophosphate to common iron salts and chelates as sources of bioavailable iron in a Caco-2 cell culture model. *J Agric Food Chem* 2009;57:5014-9.
 - Zijp IM, Korver O, Tijburg LB. Effect of tea and other dietary factors on iron absorption. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2000; 40:371-98.
 - Zimmermann MB. The potential of encapsulated iron compounds in food fortification: a review. *Int J Vitam Nutr Res* 2004;74:453-61.
 - Zimmermann MB, Hurrell RF. Nutritional iron deficiency. *Lancet* 2007; 11;370:511-20. Comment in: *Lancet* 2007; 370(9603): 1906.