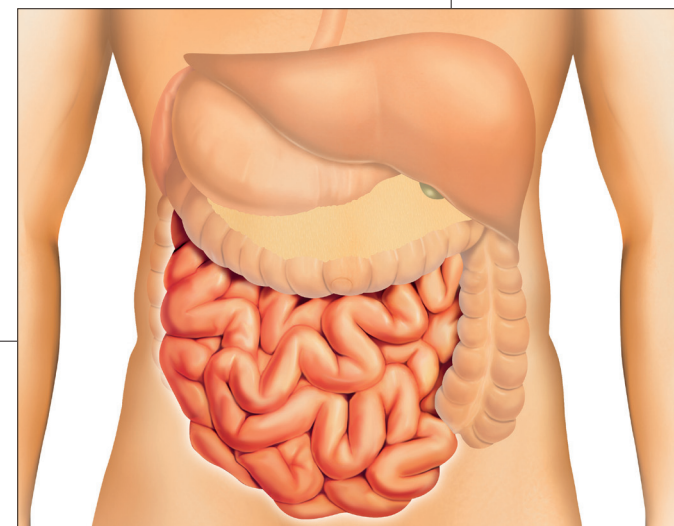


CAPÍTULO 26

BIODISPONIBILIDAD DE CAROTENOIDES, FACTORES QUE LA DETERMINAN Y MÉTODOS DE ESTIMACIÓN

Antonio J. Meléndez-Martínez, Antonio Pérez-Gálvez, María Roca, Rocío Estévez-Santiago, Begoña Olmedilla-Alonso, Adriana Z. Mercadante y José de Jesús Ornelas-Paz



INTRODUCCIÓN

Los carotenoides están presentes en muchos alimentos. Estudios *in vitro* e *in vivo* parecen indicar que podrían ser beneficiosos para la salud, aunque estos efectos protectores no han sido demostrados de forma contundente en humanos debido a las dificultades que entrañan estos estudios. Algunos de estos compuestos son precursores de la vitamina A. Se considera que los carotenoides de frutas y hortalizas pueden llegar a representar hasta 80-85% de la ingesta de vitamina A en algunas áreas. En cualquier caso, la actividad biológica de los carotenoides y compuestos derivados de ellos dependen más que de la cantidad consumida, de la absorbida y metabolizada por el organismo. El proceso de absorción de carotenoides es complejo y puede ser modificado por factores de diversa naturaleza. Este capítulo aborda el concepto de biodisponibilidad en su versión más amplia. Abunda en los factores que la determinan y los métodos para evaluarla.

El proceso de absorción de carotenoides

El estudio de la biodisponibilidad de carotenoides siempre ha sido de gran interés. El concepto de biodisponibilidad procede de la fusión de las palabras *disponibilidad* y *biológica* y su significado ha evolucionado a través del tiempo (Metzler y Huang, 1983). El término se acuñó en el campo farmacológico para hacer referencia a la velocidad y cantidad con la que el principio activo de un fármaco se absorbía y alcanzaba el tejido u órgano donde desempeña su actividad. El concepto de biodisponibilidad no se desliga de la actividad biológica o bioactividad, sino que la incluye en su definición más amplia. En la actualidad, el concepto de bioactividad parece generalmente difuminado en el de biodisponibilidad ya que, farmacológicamente, un principio activo una vez que alcanza su sitio de actividad deja de ser inerte, realizando una acción. Parece que la bioactividad es algo obvio y quizá esta sea la causa de que se tienda a olvidar que la bioactividad está implícita en la biodisponibilidad. Algunos acotan el término biodisponibilidad a la fracción del nutriente ingerido que está disponible para su uso en funciones fisiológicas o para su almacenamiento, subestimando el concepto de bioactividad (Maiani *et al.*, 2009). Otros, más puristas, utilizan el término bioaccesibilidad para referirse a la fracción del principio activo que podría ser biodisponible. Según algunos autores, la bioaccesibilidad incluye la *accesibilidad* y *absorción* (Hedrán, Díaz y Svanberg, 2002; Ornelas-Paz *et al.*, 2008). Éstos junto con la bioactividad componen el concepto de biodisponibilidad. La accesibilidad puede definirse como la fracción de componentes del alimento que se libera y se transforma en materia potencialmente absorbible e incluye todos los procesos fisicoquímicos que tienen lugar en el tracto gastrointestinal. La absorción de carotenoides se refiere a la etapa de captación de aquellos que se encuentran en micelas,

los cuales se consideran bioaccesibles por el epitelio mediante alguno de los mecanismos de absorción transepitelial. El uso de estos términos en la práctica no es claro. Suele confundirse la bioaccesibilidad con la accesibilidad, absorción o accesibilidad más absorción. Algunos autores consideran que la bioaccesibilidad de carotenoides representa su capacidad para incorporarse a las micelas (Ornelas-Paz *et al.*, 2008; Victoria-Campos *et al.*, 2013). En algunos casos la bioaccesibilidad de carotenoides se ha obtenido mediante la determinación de la cantidad de carotenoides en plasma después de la ingesta de un alimento o de un suplemento dietético en dosis única o varias dosis en un periodo (Stahl y Sies, 1992; Van Vliet, Schreurs y Van den Berg, 1995; O'Neill y Thurnham, 1998; Granado-Lorencio *et al.*, 2006 y 2009). Conocida la dosis total suministrada y la que aparece en plasma, se hace una estimación de su bioaccesibilidad. Esta estrategia permite estudiar los factores que determinan la accesibilidad y absorción de carotenoides, como el tipo de carotenoides, la matriz alimentaria que los contiene, componentes que la promuevan o dificultan, etc. Con esta estrategia se ha conseguido una cantidad apreciable de información aunque el procedimiento estima la influencia de los factores analizados en el conjunto del proceso de absorción sin poder concretar qué factor afecta a cada etapa y en qué medida.

Otros dos conceptos relacionados con el consumo de carotenoides y su actividad de vitamina A son la *bioconversión* y la *bioeficacia*. La *bioconversión* se define como la fracción de los carotenoides precursores de vitamina A absorbida que se convierte en retinol. La *bioeficacia* indica la eficiencia con la que los carotenoides provitamina A son absorbidos y convertidos en retinol. La estimación de la bioeficacia implica típicamente la medición de las reservas totales de vitamina A

en el organismo (Castenmiller y West, 1998; Ornelas-Paz, Yahia y Gardea, 2010).

ETAPAS DEL PROCESO DE ABSORCIÓN DE CAROTENOIDES

Se puede considerar que el proceso de absorción de carotenoides comienza antes de consumirlos. Depende del apetito mismo y factores psicológicos diversos, los cuales modulan la liberación de enzimas digestivas y los movimientos del tracto gastrointestinal. La masticación es fundamental para la liberación posterior de los carotenoides consumidos. Una vez que el alimento llega al estómago, comienzan a liberarse carotenoides de la matriz gracias al pH gástrico, a los movimientos del estómago y a la acción de diversas enzimas. Durante este proceso, tiene una importancia significativa el grado de procesamiento del alimento consumido como uno de los factores determinantes de la cantidad de carotenoides que se liberan de la matriz. Así, la homogeneización mecánica, la aplicación de tratamientos térmicos y la adición de grasa durante el procesamiento de frutas y hortalizas, pueden aumentar la liberación de carotenoides (Van Het Hof *et al.*, 1998). Estas técnicas pueden modificar las estructuras subcelulares en las que se alojan los carotenoides y facilitar su liberación (Stahl y Sies, 1992; Gartner, Stahl y Sies, 1997; Paetau *et al.*, 1998). Una vez liberados, los carotenoides, como todos los compuestos lipofílicos, se dispersan en la grasa de la dieta. Esta grasa que contiene carotenoides se emulsiona, gracias a los movimientos gástricos, con los componentes acuosos. En el intestino delgado, esta emulsión se hace más fina y la grasa emulsionada es digerida (Van Het Hof *et al.*, 1998; Borel *et al.*, 1998a). Durante este proceso se forman micelas, que son los agregados moleculares con un tamaño

de entre 3 y 10 nm que vehiculizan los carotenoides y otros materiales lipídicos (acilglicéridos, colesterol, fosfolípidos, vitaminas liposolubles, fitoesteroles) y los hacen potencialmente absorbibles (figura 1). En esta fase intervienen las secreciones de la vesícula biliar y del páncreas. Las primeras consisten principalmente en sales biliares, cuya misión es la de coadyuvar en la reducción del tamaño de las gotas de grasa emulsionadas y en su estabilización en el medio acuoso, así como en la formación de micelas. Las secreciones del páncreas contienen bicarbonato de sodio que neutraliza el pH

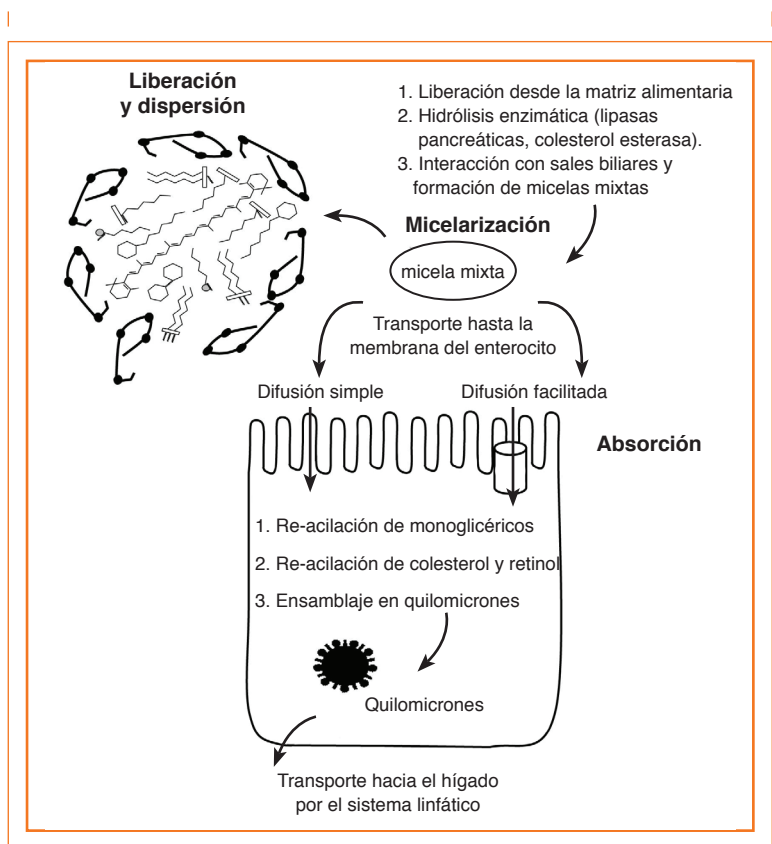


FIGURA 1. Proceso de absorción de carotenoides.

del contenido duodenal y aportan las enzimas digestivas entre las que se encuentran las lipasas pancreáticas, que hidrolizan triacilglicéridos, ésteres de colesterol y otros nutrientes. El factor clave en esta fase es la materia grasa ingerida. Su presencia va a estimular las secreciones biliares y los niveles de lipasas pancreáticas, lo que aumenta la formación de micelas y la biodisponibilidad de carotenoides (Garret, Failla y Sarama, 1999). Posteriormente las micelas deberán establecer contacto con la superficie de los enterocitos del epitelio intestinal, tejido que actúa como filtro selectivo de nutrientes. Inicialmente se creía que los carotenoides se absorbían mediante un proceso de difusión pasiva en el que las micelas colisionaban con la membrana celular y difundían su contenido hacia el citosol de la célula (El-Gorab, Underwood y Loerch, 1975; Hollander y Ruble, 1978). Parker (1996) sugirió que el gradiente de concentración entre el contenido micelar y el celular determinaba la velocidad de difusión. Explicaba cómo a partir de una determinada concentración micelar de carotenoides se podría saturar la absorción, al reducirse el gradiente de concentración. Los estudios realizados por Hauser *et al.* (1980) modificaron sustancialmente esta teoría. Posteriormente, se observó que el perfil biocinético de absorción, obtenido en sistemas modelo como vesículas de membrana de borde en cepillo (VMBC) y cultivos de células del epitelio intestinal (Caco-2), mostraba las características de una difusión facilitada (Thurnhofer y Hauser, 1990; Compassi *et al.*, 1997). De esta forma, se han identificado receptores concretos implicados en la absorción de colesterol y carotenoides, aunque esta asignación es todavía tema de debate e investigación (Van Bennekum *et al.*, 2005). El primero de estos transportadores es el SR-BI (*Scavenger Receptor class B type I*), una glicoproteína transmembranal de 80 kDa que se encuentra en los bordes en cepillo de los enterocitos, desde el duodeno hasta el colon (Lobo *et al.*, 2001). Aunque

en un primer momento se identificó este transportador como responsable de la absorción de luteína en células Caco-2 (Reboul *et al.*, 2005), su papel se ha extendido a otros carotenoides tales como el β -caroteno (Van Bennekum *et al.*, 2005), zeaxantina (During, Doraiswamy y Harrison, 2008) y licopeno (Moussa *et al.*, 2008). Otro receptor es CD36 (*Cluster Determinant 36*), que se expresa en las membranas de borde en cepillo de los enterocitos desde el duodeno hasta el yeyuno (Terpstra *et al.*, 2000). Este receptor ha sido principalmente asociado con la absorción de ácidos grasos en el intestino y se ha demostrado su papel en la absorción de β -caroteno por células COS transfectadas (Van Bennekum *et al.*, 2005). El receptor CD36 también se ha asociado con la absorción de licopeno y luteína en adipocitos de ratón (Moussa *et al.*, 2011). NPC1L1 (*Niemann-Pick C1-like 1*) es considerado el principal transportador de colesterol y fitoesterol en el intestino (Altmann *et al.*, 2004). De forma indirecta, se ha asociado este transportador con la absorción de α -caroteno, β -criptoxantina, licopeno, luteína y zeaxantina en células Caco-2 (During, Dawson y Harrison, 2005). Los estudios más recientes dirigen su atención hacia la relación que existe entre las variantes genéticas de los transportadores (SR-BI y CD36) y los distintos niveles de carotenoides presentes en el suero humano (Borel *et al.*, 2013). La identificación de estos receptores y el propio mecanismo de absorción están sustentados en el hallazgo de macromoléculas como α - y β -péptidos o ezetimiba que inhiben la absorción de compuestos lipídicos (Boffelli *et al.*, 1997; Altmann *et al.*, 2002). El mecanismo, además, es consistente con la significativa variabilidad de la eficiencia de absorción de lípidos como el colesterol entre individuos de una misma población, lo que se atribuye a diferencias genéticas expresadas en el epitelio intestinal (Wang, Paigen y Carey, 2001), hecho que también se ha observado en estudios de absorción posprandial de carotenoides (Paetau *et al.*, 1997;

Pérez-Gálvez *et al.*, 2005). Sin lugar a dudas, la consecución de estos logros recientes se debe en gran medida al desarrollo de modelos de absorción *in vitro*, basados en la obtención de vesículas de membrana de borde en cepillo o cultivos celulares, que se han utilizado como herramienta analítica para el diseño de experimentos encaminados a la determinación de la biocinética de absorción de lípidos en general y de los carotenoides en particular (Wilson, 1990).

Una vez que el material lipídico es interiorizado por las células, se empaqueta en lipoproteína denominadas quilomicrones. Estos agregados moleculares, que se ensamblan en el aparato de Golgi, alcanzan un tamaño de 75 a 1200 nm y se caracterizan por contener la apoproteína B-48, imprescindible para el ensamblaje de estas partículas. Los quilomicrones se excretan al sistema linfático y posteriormente se dirigen al hígado degradándose parcialmente antes de llegar a dicho órgano, por la actividad de la lipoproteína lipasa, en partículas remanentes de quilomicrones, proceso que implica la liberación de parte del contenido lipídico, incluyendo carotenoides, de estas partículas y su absorción en tejido endotelial (Furr y Clark, 1997). Pero la mayor parte logra alcanzar el hígado, donde se almacena o re-excreta al sistema circulatorio empaquetado en lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) que, durante su circulación, se transforman en LDL y finalmente en lipoproteínas de alta densidad (HDL) (Van den Berg *et al.*, 2000). Los carotenoides apolares como β -caroteno y licopeno, al estar concentrados en el corazón de las partículas lipoproteicas, experimentan un menor intercambio con otras lipoproteínas, por lo que las LDL aumentan su contenido de carotenoides apolares, mientras que las HDL albergan mayoritariamente las xantofilas, de carácter más polar (Paetau *et al.*, 1998). Esta cuestión es relevante puesto que va a tener un efecto en el depósito preferente de

carotenos o xantofilas en determinados tejidos, en función de su densidad de receptores para LDL o HDL (Schmitz *et al.*, 1991; Handelman *et al.*, 1992).

CAROTENOIDES BIODISPONIBLES

A pesar de que el número de carotenoides descritos en la naturaleza alcanza una cifra superior a 700 (Maiani *et al.*, 2009), no todas las fuentes naturales que los contienen están presentes en nuestra dieta habitual. Se estima que sólo tenemos acceso a unos 40 carotenoides que pueden ser absorbidos, metabolizados y utilizados en nuestro organismo. Generalmente los carotenoides biodisponibles analizados tradicionalmente son luteína, zeaxantina, β -criptoxantina, α -caroteno, β -caroteno y licopeno, presentes en los alimentos que habitualmente constituyen nuestra dieta (tabla 1). El fitoeno y fitoflueno son carotenoides incoloros que, si bien, no se incluyen tradicionalmente en tablas de contenido de carotenoides de alimentos y no siempre se analizan en muestras humanas, están presentes en alimentos de consumo frecuente (como tomates, naranjas y zanahorias, entre otros) y son biodisponibles (Khachik *et al.*, 1997a; Khachik *et al.*, 2002; Meléndez-Martínez *et al.*, 2014a; Olmedilla *et al.*, 1998). Típicamente los epóxidos de xantofilas no se encuentran en fluidos biológicos ni en tejidos a niveles comparables con los de los carotenoides anteriormente citados (Barua y Olson, 2001; Asai, Yonekura y Nagao, 2008). En algunos casos se encuentra más de un isómero geométrico (*cis/trans* o *Z/E*) de un carotenoide (Stahl y Sies, 1992; Ben-Amotz y Levy, 1996; Johnson, Krinsky y Russell, 1996; Craft *et al.*, 2004; Meléndez-Martínez *et al.*, 2013). Algunas investigaciones han demostrado la presencia de apocarotenoides y productos oxidados de carotenoides a concentraciones bajas (Khachik *et al.*, 1992;

TABLA 1. Bioaccesibilidad de carotenoides a partir de alimentos

Alimento	Bioaccesibilidad (%)	Modelo in vitro con digestión gástrica e intestinal	Referencia
Tomate	licopeno (1.4); β -caroteno (15.5); luteína (58.6); fitoeno (96.2) licopeno (79.4); β -caroteno (99.5); luteína (91.6)	Garrett <i>et al.</i> , 1999 Granado-Lorencio <i>et al.</i> , 2007	Jeffery <i>et al.</i> , 2012 Granado-Lorencio <i>et al.</i> , 2007
Pulpa de tomate	licopeno (2 ^a ; 7.5 ^b ; 6 ^c)	Colle <i>et al.</i> , 2012	Colle <i>et al.</i> , 2013
Puré de espinacas	β -caroteno (29); luteína (27)	Garrett <i>et al.</i> , 1999	Ferruzzi <i>et al.</i> , 2001
Espinacas	luteína (37.6); α -caroteno (2.4); β -caroteno (26); zeaxantina (6.7) luteína (4.7);	Reboul <i>et al.</i> , 2006 Granado-Lorencio <i>et al.</i> , 2007	Reboul <i>et al.</i> , 2006 Granado-Lorencio <i>et al.</i> , 2007
Zanahoria	licopeno (38.9); α -caroteno (20.2); β -caroteno (21.6); luteína (40.5); fitoeno (64.2) α -caroteno (72); β -caroteno (75.4); luteína (50)	Garrett <i>et al.</i> , 1999 Granado-Lorencio <i>et al.</i> , 2007	Jeffery <i>et al.</i> , 2012 Granado-Lorencio <i>et al.</i> , 2007
Pulpa de zanahoria cruda	β -caroteno (21)	Hedren <i>et al.</i> , 2002	Hedren <i>et al.</i> , 2002
Puré de zanahoria	β -caroteno (8.9); α -caroteno (4.4)	Reboul <i>et al.</i> , 2006	Reboul <i>et al.</i> , 2006
Zumo de zanahoria	luteína (22); α -caroteno (1.5); β -caroteno (1.5)	Hedren <i>et al.</i> , 2006	Courraud <i>et al.</i> , 2013
Naranja	β -criptoxantina (45); zeaxantina (43); luteína (26)	Granado-Lorencio <i>et al.</i> , 2007a	Granado-Lorencio <i>et al.</i> , 2007a
Zumo de naranja	luteína (44); zeaxantina (47); β -criptoxantina (53); α -caroteno (50); β -caroteno (50)	Garrett <i>et al.</i> , 1999	Stinco <i>et al.</i> , 2013
Tapioca hervida	β -caroteno (30)	Garrett <i>et al.</i> , 1999	Failla <i>et al.</i> , 2008
Uva	β -caroteno (7.9); luteína (8.7); violaxantina (8.4); fitoeno (47.1)	Garrett <i>et al.</i> , 1999	Jeffery <i>et al.</i> , 2012
Mango	β -caroteno (31.8); luteína (13.5); violaxantina (19.4)	Garrett <i>et al.</i> , 1999	Jeffery <i>et al.</i> , 2012
Papaya	β -caroteno (48.5); luteína (37.3); violaxantina (21.6); fitoeno (67.8)	Garrett <i>et al.</i> , 1999	Jeffery <i>et al.</i> , 2012
Ensalada	luteína/zeaxantina (45.6); β -caroteno (2.8); α -caroteno (2.0); licopeno (1.1)	Huo <i>et al.</i> , 2007	Huo <i>et al.</i> , 2007
Ensalada	luteína (82); licopeno (44); β -caroteno (26)	Goñi <i>et al.</i> , 2006	Goñi <i>et al.</i> , 2006
Macedonia de frutos	luteína (32); licopeno (5); β -caroteno (34)	Goñi <i>et al.</i> , 2006	Goñi <i>et al.</i> , 2006
Melón anaranjado	β -caroteno (3.2)	Fleshman <i>et al.</i> , 2011	Fleshman <i>et al.</i> , 2011

Calabaza	α -caroteno (17.9); β -caroteno (16.5); luteína (15.9); violaxantina (4.3)	Garrett <i>et al.</i> , 1999	Jeffery <i>et al.</i> , 2012
Batata	β -caroteno (5)	Hedren <i>et al.</i> , 2006	Mulokozi <i>et al.</i> , 2004
Pasta de trigo duro	luteína+zeaxantina (71)	Werner y Böhm, 2011	Werner y Böhm, 2011
Pasta de trigo duro con yema de huevo	luteína (57); zeaxantina (56); cantaxantina (51)	Werner y Böhm, 2011	Werner y Böhm, 2011
Guayaba	luteína (21); licopeno (73)	Chandrika <i>et al.</i> , 2006	Chandrika <i>et al.</i> , 2009
Sandía	licopeno (26)	Chandrika <i>et al.</i> , 2006	Chandrika <i>et al.</i> , 2009
Banana	β -caroteno (22); α -caroteno (22.5); <i>cis</i> - β -caroteno (27.8)	Reboul <i>et al.</i> , 2006	Ekesa <i>et al.</i> , 2012
Leche fortificada	luteína (46.5 ^d ; 45.8 ^e ; 19.7 ^f)	Garrett <i>et al.</i> , 1999	Xavier <i>et al.</i> , 2014
Yogur fortificado	luteína (47.5 ^d ; 38.3 ^e ; 17.8 ^f)	Garrett <i>et al.</i> , 1999	Xavier <i>et al.</i> , 2014

^a sin aceite añadido; ^b con aceite de oliva (5% p/p); ^c con aceite de pescado (5% p/p). ^e leche entera; ^f leche semidesnatada; ^g leche desnatada.

Khachik *et al.*, 1997; Kopec *et al.*, 2010). Durante la digestión, las xantofilas esterificadas con ácidos grasos son hidrolizadas, de forma que en plasma y tejidos se encuentran sobre todo carotenoides libres (Wingerath, Stahl y Sies, 1995; Pérez-Gálvez *et al.*, 2005).

Biodisponibilidad de carotenoides de fuentes dietarias comunes

Se considera que los carotenoides de frutas son más biodisponibles que los de las hortalizas. De manera general, se sabe que la biodisponibilidad de carotenoides de la dieta en humanos es baja (O'Neill y Thurnham, 1998). Algunos estudios indican que las dosis pequeñas se absorben mejor que las grandes, por lo que se recomienda dividir la dosis diaria de carotenoides en varias porciones para ser consumidas a lo largo del día, lo que permite incrementar la concentración de carotenoides en suero (Prince y Frisoli, 1993; CNNP, 2010).

No obstante, investigaciones recientes, demuestran que la concentración de carotenoides en la fracción del plasma que contiene mayoritariamente lipoproteínas ricas en triglicéridos es superior cuando la ingesta se realiza en una dosis en lugar de varias ingestas al día (Goltz *et al.*, 2013).

Existen estudios que han demostrado que los valores de bioaccesibilidad son similares a los de biodisponibilidad (Borel *et al.*, 1998; Garret, Failla y Sarama, 1999). Sin embargo, en otros se ha observado lo opuesto (Granado-Lorencio *et al.*, 2007a). La bioaccesibilidad generalmente se determina empleando técnicas de digestión *in vitro*, que tratan, con limitaciones e innumerables variantes, de simular el proceso de digestión humano (Borel *et al.*, 1998a). Por eso, es importante verificar los valores obtenidos mediante métodos *in vitro* con los obtenidos *in vivo* (Granado *et al.*, 2006). En la tabla 1 se presentan los valores de bioaccesibilidad de carotenoides, definidos como el porcentaje de pigmento

que se incorpora a micelas respecto al contenido inicial de pigmento en el alimento. Indudablemente, dichos porcentajes de bioaccesibilidad son una buena estimación de la biodisponibilidad de carotenoides. Destacan en la tabla 1 los valores de bioaccesibilidad de carotenoides de cultivos biofortificados. La biofortificación busca incrementar la concentración de nutrientes en alimentos básicos; actualmente, los micronutrientes objetivo son hierro, zinc y carotenoides provitamina A, debido a la alta prevalencia de deficiencias de estos micronutrientes entre los niños de menos de cinco años y en mujeres en edad de procrear en zonas en desarrollo (La Frano *et al.*, 2014). Los alimentos biofortificados estudiados son tres, la batata (Failla, Thakkar y Kim, 2009; Mills *et al.*, 2009; Bechoff *et al.*, 2011), yuca (Thakkar *et al.*, 2007, 2009; Gomes *et al.*, 2013) y maíz (Thakkar y Failla, 2008).

Las algas son alimentos cada vez más habituales en nuestras dietas. Son ricas en algunos carotenoides biodisponibles. El β -caroteno y zeaxantina de *Spirulina* son altamente biodisponibles (Wang *et al.*, 2008; Yu *et al.*, 2012). Algas como *Haematococcus pluvialis* y *Botryococcus braunii* son fuentes importantes de β -caroteno, luteína y astaxantina, carotenoides que son biodisponibles de estas fuentes en ratas (Ranga Rao *et al.*, 2013).

Presencia de carotenoides en fluidos biológicos

Los carotenoides se pueden encontrar en plasma y leche humana. Los niveles son aproximadamente cinco veces más altos en el calostro que en la leche (Sommerburg *et al.*, 2000). En este sentido, se ha hipotetizado que los carotenoides podrían estar relacionados con un menor riesgo de padecer cáncer en mujeres que han amamantado a sus hijos (Clarke,

Purdie y Glaser, 2006). El semen humano contiene licopeno, el cual podría tener un efecto beneficioso en la fertilidad masculina, posiblemente protegiendo a los espermatozoides de la oxidación (Gupta y Kumar, 2002).

Presencia de carotenoides en tejidos

Se considera que la concentración de carotenoides es considerablemente mayor en tejidos como hígado, tejidos reproductivos y glándulas suprarrenales (Canene-Adams y Erdman Jr, 2009). La próstata, además de otros carotenoides minoritarios, contiene altos niveles de licopeno (Clinton *et al.*, 1996) y se ha planteado la hipótesis de que dicho carotenoide, presente en tomates y otros frutos rojos, podría tener un papel beneficioso en la disminución del riesgo de padecer cáncer de próstata (Hadley *et al.*, 2002). Los carotenoides también se encuentran en el tejido adiposo (Kabagambe *et al.*, 2005), la piel —donde pueden proteger de lesiones producidas por la radiación— (Stahl y Sies, 2012), los ojos —fundamentalmente en la mácula lútea de la retina, el área de mayor agudeza visual— (Bone *et al.*, 1997), el tejido mamario (Nantais-Smith *et al.*, 2001; Covington *et al.*, 2001), pulmones, cervix, colon (Khachik *et al.*, 2002) y cerebro (Craft *et al.*, 2004). A diferencia de otros tejidos, donde se pueden detectar varios carotenoides a concentraciones comparables, en la mácula lútea del ojo se pueden encontrar sólo luteína y zeaxantina. En el caso de zeaxantina hay que distinguir dos isómeros ópticos, concretamente (3*R*,3'*S*)-zeaxantina y (3*R*,3'*R*)-zeaxantina (figura 6 del capítulo 1) (Bone *et al.*, 1997). La presencia selectiva de estos carotenoides en la retina se atribuye a la existencia de transportadores específicos para estos carotenoides (Bhosale *et al.*, 2004, 2009; Li *et al.*, 2011; Vachali, Nelson y Bernstein, 2012; Vachali *et al.*, 2013). Curiosamente en la piel se detectan ésteres de carotenoides (Wingerath, Sies y Stahl, 1998).

FACTORES QUE DETERMINAN LA BIODISPONIBILIDAD DE CAROTENOIDES

Los distintos factores que afectan a la biodisponibilidad de carotenoides pueden clasificarse de varias formas. En cualquier caso, es importante tener en cuenta que pueden interactuar entre sí (Castenmiller y West, 1997; Yeum y Russell, 2002; Canene-Adams y Erdman Jr, 2009).

Factores relacionados con los carotenoides

Polaridad de los carotenoides

La polaridad de los carotenoides modula su solubilidad en los lípidos de la dieta, el vehículo de estos pigmentos. La liposolubilidad depende de la estructura de cada carotenoide. La distinción general de carotenoides en carotenos y xantofilas supone ya una diferenciación en cuanto a su liposolubilidad. Los estudios comparativos indican una absorción preferente de xantofilas frente a carotenos, ya que las primeras son más polares (Faulks y Southon, 2005). Van Het Hof *et al.* (1999) demostraron que la absorción de luteína procedente de hortalizas es aproximadamente cinco veces mayor que la de β -caroteno. Otros han reportado resultados similares (Johnson *et al.*, 2000). Se ha sugerido que, debido a que son más polares, algunas xantofilas pueden incorporarse más fácilmente a las micelas que se forman en el intestino y, por tanto, ser absorbidas con mayor facilidad (Yeum y Russell, 2002). Chitchumroonchokchai, Schwartz y Failla (2004) demostraron que la micelarización *in vitro* de luteína y zeaxantina fue más eficiente que la de β -caroteno.

Isomería espacial

El perfil de isómeros de β -caroteno en sangre y tejidos es similar al que se encuentra en alimentos, donde el isómero *todo-trans* es mayoritario, aunque pueden detectarse ciertos niveles de

algunos isómeros *Z* (Faulks *et al.*, 1997; Godoy y Rodríguez-Amaya, 1998). Es interesante que cuando se administra una dosis de (*todo-E*) β -caroteno o (*9Z*)-caroteno, la configuración *todo-E* es la que se encuentra mayoritariamente cuando se evalúa la respuesta posprandial (Gaziano *et al.*, 1995). Esto sugiere una isomerización *9Z*- a *todo-E*. En este sentido, existen otras evidencias de que el (*9Z*) β -caroteno una vez ingerido podría isomerizarse al isómero *todo-E* (You *et al.*, 1996). En el caso de licopeno la situación es totalmente diferente. La mayor parte del licopeno en tomates y productos derivados se encuentra en la forma *todo-E* (Fraser y Bramley, 2004; Stinco *et al.*, 2013). Sin embargo, la proporción de isómeros *Z* en plasma y tejidos suele ser mayor (Stahl *et al.*, 1992; Clinton *et al.*, 1996; Schierle *et al.*, 1997; Ferruzzi, Failla y Schwartz, 2001). En este sentido, se ha hipotetizado que los isómeros *Z* se podrían absorber mejor o que podría producirse una isomerización *in vivo* (Stahl *et al.*, 1992). Unlu *et al.* (2007) también indicaron que la hipótesis de la absorción preferencial de los isómeros *Z* del licopeno no era suficiente para explicar por sí sola su presencia en altas proporciones en humanos, lo que sugiere que se producen isomerizaciones *in vivo*. Recientemente se demostró que la formación de (*5Z*)-licopeno está favorecida termodinámicamente y cinéticamente (Meléndez-Martínez *et al.*, 2014a), lo cual podría explicar la mayor concentración de estos isómeros en suero y tejidos. En cualquier caso, es importante tener en cuenta el o los isómeros geométricos mayoritarios de carotenoides en fluidos o tejidos humanos a la hora de seleccionar los que serían más adecuados para administrar en los diversos tipos de experimentos para evaluar su actividad biológica (Meléndez-Martínez *et al.*, 2014a).

Esterificación

La esterificación de xantofilas con ácidos grasos puede afectar su estabilidad y biodisponibilidad. Existen evidencias

que sugieren que los carotenoides esterificados son más biodisponibles que los libres (Castenmiller y West, 1998; Faulks y Southon, 2005; Pérez-Gálvez y Mínguez-Mosquera, 2005; Yahia y Ornelas-Paz, 2010). La esterificación de carotenoides con ácidos grasos aumenta su liposolubilidad, en comparación con la que presenta el carotenoide libre, y puede afectar su micelarización, como se ha sugerido en algunos estudios posprandiales e *in vitro* (Roodenburg *et al.*, 2000; Pérez-Gálvez *et al.*, 2003; Victoria-Campos *et al.*, 2013, 2013a). Sin embargo, tras la ingesta de alimentos ricos en ésteres de carotenoides, sólo se detectan en plasma las formas libres, lo que implica que en algún punto del proceso digestivo o de absorción se produce su desesterificación (Olson, 1984; Khachik *et al.*, 1992), aunque está descrita la presencia de ésteres de luteína en suero en sujetos suplementados con luteína y con concentraciones en sangre superiores a 60 µg/dL (Granado *et al.*, 1998). La esterificación de xantofilas y su consecuente mayor liposolubilidad podrían aumentar los requerimientos de sales biliares y enzimas digestivas. Algunos estudios de bioaccesibilidad indican que los requerimientos de ingesta de grasa para alcanzar una eficiencia de absorción de ésteres de xantofilas similar a la de sus correspondientes formas libres son superiores (Roodenburg *et al.*, 2000; Bowen *et al.*, 2002, Aman *et al.*, 2004). Se ha considerado que las lipasas pancreáticas realizan de forma eficiente la hidrólisis de los ésteres de carotenoides, generando las correspondientes formas libres. Sin embargo, Breithaupt, Bamedi y Wirt (2002) demostraron que la lipasa pancreática humana no hidroliza de forma eficiente los ésteres de xantofilas como β-criptoxantina, zeaxantina, luteína y capsantina, mientras que la lipasa pancreática porcina y la lipasa de *Candida rugosa* sí mostraron una actividad importante sobre dichos ésteres. Puede parecer difícil asumir que la lipasa pancreática humana no presente actividad sobre los ésteres de xantofilas pero

también se ha demostrado esta falta de actividad sobre otros sustratos (Rigtrup *et al.*, 1994). La enzima carboxil-éster lipasa, también conocida como colesterol esterasa, parece ser más activa en la desesterificación de los ésteres de carotenoides (Granado-Lorencio *et al.*, 2007a). Esta enzima es una lipasa no específica, cuya actividad depende de la presencia de sales biliares e hidroliza ésteres de colesterol, tri- di- y mono-acilglicéridos, fosfolípidos, lisofosfolípidos y ceramida (Hui y Howles, 2002). Se considera que el rol de esta enzima es compensar o suplir la actividad hidrolítica de otras lipasas sobre esos sustratos (Harrison, 1998) e incluso se ha sugerido que su actividad está implicada directamente en la hidrólisis de ésteres de vitamina A (Rudd y Brockman, 1984; Rigtrup *et al.*, 1994). Si la enzima responsable de la hidrólisis de ésteres de carotenoides es la carboxil-éster lipasa habría que hacer una consideración importante relacionada con la zona donde se localiza la actividad de esta enzima. Existen evidencias de que es en la membrana de las células del epitelio intestinal donde se ejerce su actividad (Gallo *et al.*, 1977; Lechêne de la Porte *et al.*, 1987). En consecuencia, sólo el material lipídico que es finamente emulsionado y micelarizado y que, por tanto, llega a la membrana de las células epiteliales es susceptible de ser hidrolizado por esta enzima. En el caso concreto de los ésteres de carotenoides, aunque se haya demostrado que son sustratos para la carboxil-éster lipasa no se ha probado que las formas esterificadas se incorporen de forma eficiente a las micelas, hecho necesario para que puedan alcanzar la membrana de los enterocitos donde entonces serán hidrolizados.

Interacción entre carotenoides

En una dieta normal se ingieren distintos carotenoides. Existen estudios que han demostrado que la absorción de algunos carotenoides podría verse afectada por otros, de forma que

podría existir una competencia por la absorción (Furr y Clark, 1997; Van Het Hof *et al.*, 1999; Ornelas-Paz, Yahia y Gardea, 2010; Yahia y Ornelas-Paz, 2010). La suplementación con β -caroteno puede disminuir la absorción de luteína y licopeno (Prince y Frisoli, 1993). Se ha observado que la absorción de licopeno de puré de tomate disminuye cuando se toma además una porción de espinaca o píldoras de luteína. Los cambios fueron parecidos cuantitativamente cuando se suministró espinaca o luteína purificada, apoyando la hipótesis de que la luteína era el componente causante de tal reducción y no otros componentes de la espinaca, como la fibra. De forma parecida, la absorción de luteína en personas que tomaron espinacas disminuyó cuando se ingirió simultáneamente puré de tomate o suplementos de licopeno (Tyssandier *et al.*, 2002).

Cantidad de carotenoides

La cantidad consumida de carotenoides puede afectar a su biodisponibilidad. Por ejemplo, a dosis altas, la concentración de β -caroteno en suero parece ser independiente del tamaño de las dosis (Ornelas-Paz *et al.*, 2010; Yahia y Ornelas-Paz, 2010). La suplementación de mujeres lactantes con dosis orales de 60 o 210 mg de β -caroteno generó una respuesta similar de β -caroteno en suero y leche materna (Canfield *et al.*, 1997). Todo esto sugiere, en conjunto, que el intestino humano tiene una capacidad finita para absorber carotenoides. En cambio, dosis pequeñas de carotenoides se pueden absorber más eficientemente (Castenmiller y West, 1998; Furusho *et al.*, 2000; Van Lieshout *et al.*, 2001; Rao y Shen, 2002). En el caso de los carotenoides provitamina A hay que diferenciar entre la absorción del carotenoide intacto y su transformación en retinol.

Factores relacionados con la fuente de carotenoides

Efecto de la matriz alimentaria

La matriz en la que se encuentran los carotenoides juega un papel esencial en su biodisponibilidad. En este sentido hay que tener en cuenta que los carotenoides no sólo se pueden obtener de alimentos, sino también de otras fuentes, como suplementos, en los que la formulación juega un papel esencial en su liberación. Existen muchos ejemplos que demuestran el efecto tan importante que juega la matriz alimentaria en la biodisponibilidad de carotenoides. La luteína es más biodisponible de huevos que de espinacas (Chung, Rasmussen y Johnson, 2004). El β -caroteno disuelto en aceite se absorbe mejor que el que se encuentra en alimentos (Castenmiller y West, 1998). Los carotenoides de frutas suelen ser más biodisponibles que los de las hortalizas verdes (De Pee *et al.*, 1998). Se piensa que la baja biodisponibilidad de los carotenoides de éstas se debe en gran parte a que se encuentran asociados a proteínas en los cloroplastos (De Pee y West, 1996; Castenmiller y West, 1998). Por otra parte, cuando los carotenoides se encuentran formando cristales en los alimentos (como los cristales de β -caroteno en zanahorias y de licopeno en los tomates), su biodisponibilidad es más baja (De Pee y West, 1996; De Pee *et al.*, 1998; Knockaert *et al.*, 2012; Schweiggert *et al.*, 2012; Gupta *et al.*, 2011). La situación es diferente en frutas como la papaya y el mango, donde los carotenoides están disueltos en gotas de aceite y se liberan más fácilmente en el tracto gastrointestinal (Castenmiller y West, 1998). Recientemente se ha demostrado en ratas que la biodisponibilidad del β -caroteno de mango Ataúlfo es superior a la del β -caroteno de zanahorias (Ornelas-Paz, Yahia y Gardea, 2010). Asimismo, existen evidencias de que el β -caroteno de mangos y papayas es más biodisponible que

el de espinacas, cilantro y zanahorias (Carrillo-López, Yahia y Ramírez-Padilla, 2010).

Efecto del procesamiento

El tratamiento térmico y mecánico de los alimentos puede aumentar la biodisponibilidad de los carotenoides al favorecer su liberación de la matriz. Esto se debe a que el procesamiento contribuye a la rotura de paredes celulares, orgánulos intracelulares, asociaciones proteína-carotenoide y al incremento en la digestibilidad del alimento (Ornelas-Paz *et al.*, 2008; Canene-Adams y Erdman Jr, 2009; Yahia y Ornelas-Paz, 2010). La biodisponibilidad del β -caroteno y licopeno de tomates se incrementa al aumentar el grado de homogenización (Van Het Hof *et al.*, 2000). La absorción de β -caroteno de puré de zanahorias cocidas es mayor que la de puré de zanahorias crudas (Livny *et al.*, 2003). Por otra parte, la adición de aceite durante el procesado puede favorecer la disolución de los cristales de carotenoides. En el caso del tomate, la adición de aceite también puede favorecer la isomerización del licopeno (Van Het Hof *et al.*, 1998).

Si bien el procesamiento puede favorecer la absorción de carotenoides al promover su liberación del alimento, es importante controlar bien la temperatura, tiempo y otras condiciones, ya que tratamientos muy severos pueden producir pérdidas excesivas de carotenoides (Rodríguez-Amaya, 1997; Van Jaarsveld *et al.*, 2006; Gibson, Perlas y Hotz, 2007; Maiani *et al.*, 2009).

Formulación

Los carotenoides de suplementos son, en general, más biodisponibles que los de la mayoría de las fuentes naturales. Los vehículos para carotenoides utilizados en dichos suplementos son variados. Dichos vehículos deben promover

su estabilidad y liberación, así como otras propiedades (Boon *et al.*, 2010; Qian *et al.*, 2012; Salvia-Trujillo *et al.*, 2013; De Paz *et al.* 2014). Se ha comprobado en humanos que el β -caroteno de una bebida enriquecida con dicho carotenoide microencapsulado y dispersado en agua es considerablemente más biodisponible que el de jugo de zanahorias (Thürmann *et al.*, 2002). Evans *et al.* (2013) demostraron que formulaciones de luteína basadas en almidón son más biodisponibles que aquellas basadas en alginato.

Factores relacionados con otros componentes de la dieta

Grasa

El papel de la grasa en la biodisponibilidad de los carotenoides es muy importante. La grasa estimula la liberación de sales biliares y aumenta el tamaño y número de las micelas, facilitando así la solubilización de carotenoides en las mismas y su penetración en las células intestinales. Es necesaria para que el intestino secrete cantidades significativas de lipoproteínas ricas en triglicéridos, en las cuales se vehiculizan los carotenoides (Dubois *et al.*, 1994; Canene-Adams y Erdman Jr, 2009). Existen numerosos estudios que ponen de manifiesto que la grasa de la dieta mejora la biodisponibilidad de carotenoides. Unlu *et al.* (2005) demostraron que la absorción de carotenoides de salsas y ensaladas aumenta cuando se consumía simultáneamente aguacate o aceite de aguacate como fuente de grasa. Ornelas-Paz *et al.* (2008) demostraron que la adición de grasa dietaria incrementaba la micelarización de β -caroteno de mangos inmaduros, medianamente maduros y completamente maduros en 25.7, 114.4 y 231.1%, respectivamente. En este estudio se empleó un método *in vitro* de digestión acoplado a células Caco-2. Los mismos autores también observaron que el consumo simultáneo de grasa y

mango aumentaba al doble la biodisponibilidad del β -caroteno de la fruta en ratas (Ornelas-Paz, Yahia y Gardea, 2010).

Un aspecto importante a considerar es la cantidad de grasa que es necesaria para la adecuada absorción de carotenoides. Algunos autores sugieren un mínimo de 5 g/día (Castenmiller y West, 1998), mientras que otros recomiendan un consumo de 3-5 g por alimento (Roodenburg *et al.*, 2000; Brown *et al.*, 2004). Es interesante reparar en el hecho de que existen evidencias de que el incremento en la cantidad de grasa no genera necesariamente un incremento proporcional en la biodisponibilidad de los carotenoides (Brown *et al.*, 2004).

Además de la cantidad, es también importante considerar el tipo de grasa consumida. En un interesante estudio se observó que la absorción de β -caroteno fue menor cuando la fuente alimentaria se consumió en presencia de aceite de girasol (rica en ácidos grasos insaturados) que cuando se hizo lo propio en presencia de grasa de res (rica en ácidos grasos saturados), aunque la respuesta lipémica fue mayor como consecuencia del consumo del aceite (Hu, Jandacek y White, 2000). Algunos estudios han demostrado que la biodisponibilidad de carotenoides disminuye cuando se ingieren triacilglicéridos de cadena corta-media en vez de triacilglicéridos de cadena larga, aunque no se ha identificado la etapa donde esta diferencia ejerce su efecto (Hollander y Ruble, 1978; Borel *et al.*, 1998a).

Efecto de la fibra dietética

La fibra también tiene un papel importante en la biodisponibilidad de carotenoides. Suele tener un efecto negativo, que podría deberse, entre otros factores, a que secuestra sales biliares (necesarias para la micelarización) y a que aumenta la viscosidad del medio gastrointestinal, lo que dificulta el contacto entre micelas ricas en carotenoides y

el enterocito (Pasquier *et al.*, 1996; Canene-Adams y Erdman Jr, 2009). Se ha demostrado que la adición de pectina a un alimento rico en carotenoides reduce considerablemente la respuesta plasmática del β -caroteno en humanos (Rock y Swendseid, 1992). Riedl *et al.* (1999) administraron diversos tipos de fibras (pectina, goma guar, alginato, celulosa y salvado de trigo) en cantidades de 0.15 g/kg de peso corporal a humanos y observaron que la pectina, goma guar y alginato disminuyeron la absorción de β -caroteno entre 33 y 43%, mientras que todas las fibras redujeron la absorción de licopeno y luteína entre 40 y 70%. Se ha demostrado que la presencia de sustitutos de las grasas en la dieta, como poliésteres de sacarosa, reduce notablemente la bioaccesibilidad de carotenoides (Cooper, Webb y Peters, 1997). También existen evidencias de que tanto la cantidad total como el tipo de pectina presente en la matriz alimentaria afectan la incorporación de carotenoides en micelas (Ornelas-Paz *et al.*, 2008).

Efecto de la vitamina E

El consumo simultáneo de vitamina E podría afectar negativamente la absorción de carotenoides. Entre otras razones, dicha vitamina podría competir con los carotenoides por su incorporación a micelas (Furr y Clark, 1997).

Efecto de los minerales

El papel de los minerales en la biodisponibilidad de carotenoides se ha estudiado escasamente. En un estudio reciente en el que se usó un método *in vitro* de digestión acoplado a cultivos celulares (Caco-2) se observó que los minerales divalentes causaron una disminución de la micelarización de carotenoides y su posterior incorporación a las células Caco-2. Los efectos fueron más marcados con Fe y Zn que con Ca y Mg (Biehler *et al.*, 2011).

Efecto de los fitoesteroles

Los esteroides de las plantas reducen la absorción de colesterol. Asimismo, existen estudios que indican que pueden disminuir la absorción de carotenoides (Richelle *et al.*, 2004; Amundsen *et al.*, 2004). Sin embargo, está descrita la ausencia de efecto de los fitoesteroides sobre la biodisponibilidad de β -criptoxantina ingerida simultáneamente (Granado-Lorencio *et al.*, 2011)

Factores relacionados con el individuo

Estatus de vitamina A

La absorción de carotenoides puede verse afectada por el estatus de vitamina A. Se ha demostrado que la absorción y bioconversión a vitamina A de carotenoides varió inversamente con el estatus de dicha vitamina. Esta investigación se llevó a cabo con niños filipinos con reservas bajas o marginales de la vitamina (Ribaya-Mercado *et al.*, 2000).

Bioconversión de carotenoides a vitamina A y otros componentes

Los carotenoides pueden metabolizarse enzimáticamente, y se forman en primera instancia metabolitos como retinoides y apocarotenoides, los cuales pueden intervenir en acciones biológicas. En mamíferos, se han identificado dos enzimas responsables de la rotura oxidativa de carotenoides. BCMO1 (β , β -caroteno 15,15'-monooxigenasa 1) rompe la molécula de algunos carotenoides en el centro dando dos moléculas de todo-*trans*-retinal, que puede oxidarse de forma irreversible para formar ácido retinoico o reducirse de forma reversible para dar lugar a retinol. BCDO2 (β , β -caroteno 9,10'-dioxigenasa 2) rompe los carotenoides de forma excéntrica, en el doble enlace 9, 10 o 9'-10', dando lugar a apocarotenoides y otro derivado de menor peso molecular (Mein *et al.*, 2011; Lietz *et*

al., 2012; Lobo *et al.*, 2012). El conocimiento de los factores que afectan la actividad de estas enzimas es importante para explicar los niveles de carotenoides en humanos.

Sexo

Se piensa que podrían existir diferencias en la biodisponibilidad de carotenoides en función del sexo. En un estudio se observó que la respuesta plasmática a una dosis de β -caroteno era mayor en hombres que en mujeres (Nierenberg *et al.*, 1991), aunque estos resultados podrían deberse en parte a las diferencias en peso y composición corporal entre ambos sexos (West y Castenmiller, 1998). En cualquier caso es importante tener en cuenta que los niveles plasmáticos de carotenoides pueden variar considerablemente a lo largo del ciclo menstrual (Forman *et al.*, 1996, 1998). Sin embargo, cuando estos niveles de carotenoides se ajustan a la concentración de colesterol, no se observan cambios importantes durante el ciclo (Rock *et al.*, 1995).

Edad

El efecto de la edad en la biodisponibilidad de carotenoides no está totalmente claro. En algunos estudios se ha observado una respuesta plasmática de β -caroteno y luteína mayor en personas de edad avanzada que en jóvenes (Olmedilla-Alonso *et al.*, 2014), mientras que en otros estudios se ha reportado lo contrario (Sugarman *et al.*, 1991). Algunas investigaciones han concluido que el contenido de algunos carotenoides (α -caroteno, β -caroteno y luteína) en quilomicrones 9 horas después del consumo del alimento investigado no difiere significativamente entre jóvenes y personas de edad avanzada. En el caso del licopeno sí se detectaron diferencias importantes, concretamente una respuesta menor en las personas mayores (Cardinault *et al.*, 2003).

Enfermedades e infecciones

Evidentemente, la absorción de sustancias liposolubles en general y carotenoides en particular puede verse modificada por cualquier trastorno que afecte la digestión y absorción de grasas (West y Castenmiller, 1998). Existen evidencias de distinta naturaleza que indican que la infección con parásitos disminuye la biodisponibilidad de carotenoides (De Pee *et al.*, 1998; Jalal *et al.*, 1998).

Consumo de alcohol

El alcohol podría afectar a la biodisponibilidad de carotenoides; sin embargo, se requieren más estudios para demostrar el efecto negativo del alcohol en la absorción de carotenoides (Albanes *et al.*, 1997).

Tabaquismo

El tabaquismo puede afectar los niveles de carotenoides presentes en humanos. Ross *et al.* (1995) analizaron los contenidos de carotenoides y vitaminas C y E en plasma de varones de entre 50 y 59 años y concluyeron que los niveles de α -caroteno, β -caroteno y β -criptoxantina eran significativamente menores en fumadores (Ross *et al.*, 1995).

Variaciones interindividuales

La capacidad de absorber carotenoides puede variar de forma muy significativa de unos individuos a otros, de forma que algunos pueden considerarse como de respuesta baja o incluso no responsivos (Canene-Adams y Erdman Jr, 2009). Las personas no responsivas son aquellas que muestran aumentos pequeños o nulos de carotenoides en plasma tras la ingesta continua de dietas o suplementos ricos en carotenoides. Entre los factores que podrían estar relacionados con dicha falta de respuesta se encuentran problemas en la incorporación del carotenoide por los enterocitos,

conversión excesiva en vitamina A o errores en el metabolismo de lipoproteínas, entre otros (Borel *et al.* 1998). Como se explicó antes, existen transportadores de carotenoides que están involucrados en su biodisponibilidad. La cantidad y funcionalidad de dichos transportadores depende en gran parte del genotipo de cada individuo. Los estudios nutrigenómicos en este contexto son por tanto de gran interés (Reboul y Borel, 2011; Borel, 2012).

MÉTODOS PARA DETERMINAR LA BIODISPONIBILIDAD DE CAROTENOIDES

Para estimar la biodisponibilidad de carotenoides se han usado distintas estrategias, que van desde la simulación *in vitro* de la digestión hasta la administración de carotenoides radiactivos en humanos (Carbonell-Capella *et al.*, 2014). También se han realizado estudios con animales (Zuniga y Erdman, 2011; Sy *et al.*, 2012). Sin embargo, el proceso de absorción y transporte de carotenoides en humanos no se simula de forma exacta por ningún modelo *in vitro* o animal (Lee *et al.*, 1999). Muchos estudios han examinado la biodisponibilidad de carotenoides en humanos (Castenmiller *et al.*, 1999; Tyssandier *et al.*, 2003, Riso *et al.*, 2005, 2010; Ross *et al.*, 2011, Goltz *et al.*, 2013; Granado *et al.*, 2006, 2009, 2010), usando una dosis única. Borel *et al.* (1998) demostraron una alta correlación entre la bioaccesibilidad de carotenoides *in vitro* y los resultados de biodisponibilidad *in vivo* en humanos. Eso permite plantear los modelos *in vitro* como una buena alternativa para el estudio de la biodisponibilidad de carotenoides evitando el mayor costo y esfuerzo que suponen los modelos *in vivo* (Carbonell-Capella *et al.*, 2014).

Balance de materia

Este método consiste en administrar un alimento rico en carotenoides a individuos sometidos previamente a una dieta baja en carotenoides durante algunas semanas, analizando el contenido de carotenoides en las heces fecales expulsadas. Este método considera que la cantidad de carotenoides absorbida es igual a la diferencia entre la cantidad de carotenoides administrados y la cantidad de carotenoides excretados. Una ventaja es que es un método no invasivo. Una desventaja es que es difícil controlar la dieta de los voluntarios durante el periodo previo al experimento (periodo de limpieza o agotamiento). Tampoco considera degradaciones ni transformaciones de carotenoides durante su paso a través del tracto gastrointestinal, ni contempla que existen algunas especies de *Bacillus*, *Streptococcus* y *Staphylococcus*, propias de la flora intestinal humana que pueden metabolizar carotenoides. Finalmente, este método implica trabajar con heces, lo cual puede ser desagradable para el analista. Generalmente el periodo de recolección de heces puede ir de tres a cinco días después de haberse administrado el alimento rico en carotenoides (Van den Berg *et al.*, 2000).

Balance ileostómico

Este método consiste en administrar un alimento rico en carotenoides a individuos que fueron sometidos a una ileostomía (abertura en el vientre a través de la cual se eliminan las heces) y que también fueron sometidos a una dieta baja en carotenoides durante algunas semanas previas al experimento. Posteriormente, se analiza el contenido de carotenoides en los fluidos que salen del intestino delgado. Este método también considera que la cantidad de carotenoides absorbida es igual a la diferencia entre la cantidad de carotenoides administrados

y excretados. De esta forma se evita el tránsito del alimento por el intestino grueso, con lo cual se ahorra bastante tiempo y se evitan algunas degradaciones y transformaciones de los carotenoides. Sin embargo es difícil controlar exhaustivamente la dieta de los voluntarios durante el periodo previo al experimento (periodo de limpieza o agotamiento) y no se tienen en cuenta degradaciones ni transformaciones de carotenoides durante su paso a través del tracto gastrointestinal (Faulks *et al.*, 1997).

Lavado gastrointestinal

Este método consiste en administrar un alimento rico en carotenoides a individuos que fueron sometidos previamente a una dieta baja en carotenoides durante algunas semanas. Posteriormente, se administra a los voluntarios una pasta basada en polietilenglicol, para acelerar el tránsito de los carotenoides a lo largo del tracto gastrointestinal. Finalmente, se analiza el contenido de carotenoides en las heces fecales excretadas. Este método también considera que la cantidad de carotenoides absorbida es igual a la diferencia entre la cantidad de carotenoides administrados y excretados. Presenta una ventaja adicional a las que tienen los métodos explicados antes, que consiste en que el paso del alimento por el tracto gastrointestinal es rápido, con lo cual se ahorra bastante tiempo de colección de heces fecales. Una desventaja es que los polietilenglicoles administrados aceleran el paso del alimento a través del tracto gastrointestinal, lo cual puede evitar una adecuada liberación de los carotenoides desde el alimento (Shiau *et al.*, 1994).

Evaluación de niveles en plasma

Al igual que en los métodos anteriores, los voluntarios reciben un alimento rico en carotenoides tras un periodo de dieta baja en carotenoides. Después se analiza el incremento de los

niveles de carotenoides en el plasma o algunas fracciones de éste. El estudio puede considerar una sola dosis o varias dosis durante un periodo largo. Para el caso de una sola dosis, el método implica que se obtenga una muestra inicial de plasma, previo al suministro del alimento, y otras varias muestras inmediatamente después de administrado el alimento. En general las muestras se toman cada hora durante un periodo promedio de seis horas. Cuando el experimento es a largo plazo generalmente sólo se toman dos muestras, una al comienzo y otra al final del experimento (Wingerath *et al.*, 1995; Olmedilla *et al.*, 2002; Pérez-Gálvez *et al.*, 2005). Una ventaja de este método es que las condiciones experimentales son fisiológicas. Sin embargo, es difícil controlar la dieta de los voluntarios durante el periodo previo al experimento (periodo de limpieza o agotamiento) y en los estudios a largo plazo durante el periodo de experimentación. Por otra parte, no permite obtener datos absolutos de biodisponibilidad. Generalmente los datos se presentan en mg/mL de plasma o como área bajo la curva, por lo que sólo permite comparar la biodisponibilidad de carotenoides entre alimentos. Generalmente estas evaluaciones son difíciles de interpretar, ya que las concentraciones de estos compuestos son muy pequeñas y en algunos casos los cambios de concentración apenas se detectan. Esto puede evitarse en cierta medida incrementando la cantidad de carotenoides suministrada a los individuos. Se recomienda utilizar fracciones del plasma ricas en carotenoides (aquellas fracciones que contienen los quilomicrones), con la finalidad de hacer más sensible el método y de estimar los carotenoides plasmáticos de nueva absorción. No obstante la obtención de dichas fracciones puede ser complicada (Van den Berg *et al.*, 2000).

Como ya se ha comentado, en el caso de los experimentos en los que se usa una sola dosis, las muestras se toman

durante las primeras seis horas posteriores al suministro de los alimentos. Se ha demostrado que parte de los carotenoides absorbidos son retenidos en el enterocito hasta que se suministra un segundo alimento. Con la finalidad de considerar este hecho en las mediciones, el número de muestras se puede incrementar hasta doce, lo cual es molesto para los voluntarios. Aun así, se ha demostrado que después del consumo de un alimento rico en carotenoides, los niveles de estos compuestos en el plasma se mantienen elevados hasta por diez días después del suministro del alimento, lo cual afecta seriamente los resultados (Granado, Olmedilla y Blanco, 2004; Tyssandier *et al.*, 2002, 2003).

Otras desventajas de este método es que suele observarse una gran variabilidad interindividual, así como un cierto número de voluntarios no responsivos (Van den Berg *et al.*, 2000; Maiani *et al.*, 2009).

Métodos isotópicos

Consiste en suministrar una dosis de carotenoides marcados radiactivamente y monitorear la absorción de los átomos isotópicos. Por ética, este método en humanos está prohibido, a menos que se utilicen isótopos estables. Aun así, existen algunos reportes de este tipo (Goodman *et al.*, 1966; Blomstrand *et al.*, 1966). Este método es uno de los que ofrece mayores ventajas, pues es muy sensible y permite obtener datos absolutos.

Modelos animales

Estos métodos consisten en suministrar un alimento rico en carotenoides a animales modelo y evaluar su respuesta en plasma o su acumulación en tejidos. Aunque algunos sugieren

que jerbos o hurones simulan el metabolismo humano, lo cierto es que es más que dudable, dadas las enormes diferencias fisiológicas existentes. En estos casos se puede tener un control completo de la dieta de los animales durante todo el tiempo que dura el experimento. Algunos de ellos permiten obtener datos absolutos, especialmente cuando se estudia la acumulación de carotenoides en ciertos órganos (Ornelas-Paz *et al.*, 2010).

Modelos basados en digestiones *in vitro*

Se considera que los modelos *in vivo* aportan información fundamentalmente sobre los factores asociados al sujeto y los modelos *in vitro* sobre los asociados al alimento. Estos modelos aportan información complementaria, pero no necesariamente intercambiable (Granado *et al.*, 2006). Los modelos *in vitro* se basan en la fisiología humana y se han desarrollado como métodos simples, baratos y reproducibles para estudiar la estabilidad de los componentes de los alimentos durante la digestión, la micelarización, el transporte intestinal y el metabolismo, con la finalidad de predecir la biodisponibilidad a partir del alimento (Maiani *et al.*, 2009). Para el estudio de los procesos preabsortivos de los carotenoides se utilizan modelos de digestión *in vitro*, de micelarización y de incorporación celular (células Caco-2), que aportan información sobre los factores ligados al alimento que pueden afectar su biodisponibilidad (término actualmente utilizado preferentemente en estudios *in vivo*). Los métodos *in vitro* utilizados hasta ahora con los carotenoides son muy diversos y dan lugar a resultados que, en general, son difícilmente comparables. Los métodos de digestión *in vitro* constan de diversas etapas. La masticación del alimento, previa a su digestión, indudablemente afecta la bioaccesibilidad de los carotenoides. Este es uno de los puntos coyunturales de los

modelos *in vitro*, ya que determina en gran parte la liberación de carotenoides del alimento. El grado de masticación u homogenización dará origen a diferentes tamaños de partículas. A menor tamaño de partícula del alimento, mayor superficie disponible para la acción de las enzimas digestivas (Hedré, Díaz y Svanberg, 2002; Granado-Lorencio *et al.*, 2007a, 2009). En los modelos de digestión *in vitro* puede incluirse la fase oral o no, que consiste en exponer al alimento a la acción de la α -amilasa a 37 °C, lo que favorece la hidrólisis del almidón de la matriz (Hedré, Díaz y Svanberg, 2002; Reboul *et al.*, 2006; O'Connell, Ryan y O'Brien, 2007; Takkar *et al.*, 2007; Failla *et al.*, 2008; Granado-Lorencio *et al.*, 2009). Los tiempos y pH de esta etapa suelen variar de cinco a diez minutos y de 6.5 a 6.8, respectivamente. Esta etapa es sin duda importante. La bioaccesibilidad *in vitro* de α -caroteno y β -caroteno cuando se incluye la fase oral varió entre el 72 y 75.4%, mientras que sin dicha fase la bioaccesibilidad de estos carotenos fue del 31.5 y 33.5%, respectivamente (Hedré, Díaz y Svanberg, 2002; Granado-Lorencio *et al.*, 2007a).

La fase gástrica consiste en exponer al alimento en contacto con pepsina en condiciones ácidas a temperatura fisiológica y con agitación. Se añade ácido clorhídrico para obtener un pH ácido. Puede agregarse mucina y albúmina de suero bovino (Granado-Lorencio *et al.*, 2007). En general, el pH usado oscila entre 1 y 2.5. El tiempo de digestión gástrica comúnmente varía entre una y dos horas (Hedré, Díaz y Svanberg, 2002, Granado-Lorencio *et al.*, 2007, Hornero-Méndez y Mínguez-Mosquera 2007, Takkar *et al.*, 2007, Failla *et al.*, 2008). Reboul *et al.* (2006), por su parte, utilizaron un pH de 4 y un tiempo de digestión gástrica de 30 minutos, por considerar que son las condiciones fisiológicas para la digestión de frutas y hortalizas. En estas condiciones la micelarización de carotenoides fue menor.

La fase intestinal de la digestión se realiza a 37 °C, a un pH de entre 6 y 8 y un tiempo que suele variar entre 1-2.5 horas. Las principales diferencias entre los protocolos publicados se encuentran en las soluciones enzimáticas utilizadas, en las que, en general, se incluyen la pancreatina y las sales biliares (Reboul *et al.*, 2006). Algunos añaden otras enzimas como lipasa, colipasa y carboxil-éster lipasa (Granado-Lorencio *et al.*, 2007a, O'Connell, Ryan y O'Brien, 2007, Takkar *et al.*, 2007, Failla *et al.*, 2008). Estas variaciones pueden dar lugar a importantes diferencias en la bioaccesibilidad de carotenoides. Así, por ejemplo, cuando no se añaden sales biliares, la bioaccesibilidad del β -caroteno disminuye aproximadamente 80%, en cambio, si se duplica su cantidad, de 20 a 50 g/L, no hay un incremento adicional en la bioaccesibilidad (Carbonell-Capella *et al.*, 2014). La carboxil-éster lipasa parece ser determinante en la liberación de las xantofilas a partir de sus formas esterificadas presentes en los alimentos (Chitchumroonchokchai y Failla, 2006, Granado-Lorencio *et al.*, 2007a). Durante esta etapa se presenta la formación de micelas y la incorporación de carotenoides a las mismas. La separación de la fase micelar se suele realizar por centrifugación o por sedimentación, con tiempos y velocidades muy variables.

Los estudios *in vitro* indican que los carotenoides son bastante estables durante el paso por el tracto gastrointestinal, ya que, como media, 80% de los carotenoides habitualmente estudiados en la dieta, permanece al final de la digestión (Garret *et al.*, 1999; Chitchumroonchokchai, Schwartz y Failla, 2004; Serrano *et al.*, 2005; Granado-Lorencio *et al.*, 2007). Cuando se valora el contenido de carotenoides esterificados, independientemente del alimento estudiado, se observa que la hidrólisis durante la digestión *in vitro* es incompleta (aproximadamente menos de 40%) (Chitchumroonchokchai

y Failla, 2006, Granado-Lorencio *et al.*, 2007, 2007a). En cambio, la fase de transferencia micelar es crítica para su biaccesibilidad y esto depende de la estructura del carotenoide y del alimento que lo contiene. Por último, en algunos estudios de bioaccesibilidad se incluye como paso final la captación celular, utilizando células Caco-2 como sustitutos de enterocitos intestinales, absorción e incorporación en quilomicrones. Hay que tener presente que aunque el uso de estas células aporte información mecanística (proporción y mecanismos de transporte a lo largo del tiempo, saturación e interacciones), ningún cultivo celular incorpora o metaboliza estos compuestos como las células normales del intestino humano. Los resultados suelen expresarse de diversas maneras, todas ellas válidas, si se consideran las limitaciones de estos modelos (O'Connell *et al.*, 2007; Hornero-Méndez y Mínguez-Mosquera, 2007; Granado-Lorencio *et al.*, 2007a; Kean *et al.* 2011; Rodríguez-Roque *et al.*, 2013), aunque la comparación de resultados entre estudios es difícil.

NECESIDADES DE INVESTIGACIÓN

El entendimiento del proceso de absorción de carotenoides es crucial para diseñar estrategias que permitan aumentar su biodisponibilidad. Los mecanismos involucrados en su incorporación intestinal y posterior transporte no se conocen por completo. Estudios con carotenoides marcados isotópicamente sin duda permitirán mejorar el conocimiento sobre dichos mecanismos. Por otra parte, la nutrigenómica está ayudando ya a entender factores genéticos individuales relacionados con la biodisponibilidad de carotenoides; sin embargo, se requieren más estudios de esta naturaleza.

Si bien se conocen los factores que modulan la

biodisponibilidad de carotenoides de la dieta, los estudios existentes son simples y no reproducen exactamente las condiciones reales. El estudio de la interacción de factores es relevante en este sentido. Particular énfasis debe ponerse en los efectos de la cantidad y tipo de fibras, grasa y minerales.

La determinación de la biodisponibilidad de carotenoides de fuentes no tradicionales es un campo de investigación

poco estudiado. Asimismo, la elaboración de tablas de biodisponibilidad de carotenoides de alimentos crudos y procesados es un importante campo de trabajo para el futuro.

Por otra parte, es esencial la adopción de métodos consensuados de digestión *in vitro* que permitan comparar de una forma más directa y razonable los resultados obtenidos en distintos laboratorios. Recientemente se ha propuesto una metodología consensuada a nivel internacional (Minekus *et al.*, 2014), que, aun así, debe adaptarse para algunos fines.

REFERENCIAS

- Albanes, D., Virtamo, J., Taylor, P.R., Rautalahti, M., Pietinen, P., Heinonen, O.P. 1997. *The American Journal of Clinical Nutrition* 66: 366-372.
- Altmann, S.W., Davis, H., Yao, X., Lavery, M., Compton, D.S., Zhu, L.J., Crona, J.H., Caplen, M.A., Hoos, L.M., Tetzloff, G., Priestley, T., Burnett, D.A., Strader, C.D., Graziano, M.P. 2002. *Biochimica et Biophysica Acta* 1580: 77-93.
- Altmann, S.W., Davis, H.R. Jr., Zhu, L.J., Yao, X., Hoos, L.M., Tetzloff, G., Iyer, S.P., Maguire, M., Golovko, A., Zeng, M., Wang, L., Murgolo, N., Graziano, M.P. 2004. *Science* 303: 1201-1204.
- Aman, R., Bayha, S., Carle, R., Schieber, A. 2004. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 6086-6090.
- Amundsen, A.L., Ntanios, F., Van der Put, N., Ose, L. 2004. *European Journal of Clinical Nutrition* 58: 1612-1620.
- Asai, A, Yonekura, L. y Nagao, A. 2008. *The British Journal of Nutrition* 100: 273-277.
- Barreto, G.P.M., Fabi, J.P., De Rosso, V.V., Cordenunsi, B.H., Lajolo, F.M., Nascimento, J.R.O., Mercadante, A.Z. 2011. *Journal of Food Composition and Analysis* 24: 620-624.
- Barua, A.B. y Olson, J.A. 2001. *The Journal of Nutrition* 131: 3212-3215.
- Bechoff, A., Poulaert, M., Tomlins, K.I., Westby, A., Menya, G., Young, S., Dhuique-Mayer, C. 2011. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 10373-10380.
- Beltrán, B., Estévez, R., Cuadrado, C., Jiménez, S., Olmedilla Alonso, B., 2012. *Nutrición Hospitalaria* 27: 1334-1343.
- Ben-Amotz, A. y Levy, Y. 1996. *The American Journal of Clinical Nutrition* 63: 729-734.
- Bhosale, P., Larson, A.J., Frederick, J.M., Southwick, K., Thulin, C.D., y Bernstein, P.S. 2004. *Journal of Chemical Biology* 279: 49447-49454.
- Bhosale, P., Li, B., Sharifzadeh, M., Gellermann, W., Frederick, J.M., Tsuchida, K., Bernstein, P.S. 2009. *Biochemistry* 48: 4798-4807.
- Biehler, E., Hoffmann, L., Krause, E., Bohn, T. 2011. *The Journal of Nutrition* 141: 1769-1776.
- Blomstrand, R. y Werner, B. 1967. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation* 19: 339-345.
- Boffelli, D., Compassi, S., Werder, M., Weber, F.E., Phillips, M.C., Schulthess, G., Hauser, H. 1997. *FEBS Letters* 411: 7-11.
- Bone, R.A., Landrum, J.T., Friedes, L.M., Gómez, C.M., Kilburn, M.D., Menéndez, E., Vidal, I., Wang, W. 1997. *Experimental Eye Research* 64: 211-218.

REFERENCIAS

- Boon, C.S, McClements, D.J., Weiss, J., Decker, E. 2010. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 5: 515-532.
- Borel, P. 2012. *Molecular Nutrition & Food Research* 56: 228-240.
- Borel, P., Grolier, P., Mekki, N., Boirie, Y., Rochette, Y., Le Roy, B., Alexandre-Gouabau, M.C., Lairon, D., Azais-Braesco, V. 1998. *Journal of Lipid Research* 39: 2250-2260.
- Borel, P., Tyssandier, V., Mekki, N., Grolier, P., Rochette, Y., Alexandre-Gouabau, M.C., Lairon, D., Azais-Braesco, V. 1998a. *The Journal of Nutrition* 128: 1361-1367.
- Borel, P., Lietz, G., Goncalves, A., De Edelenyi, F.S., Lecompte, S., Curtis, P., Goumidi, L., Caslake, M.J., Miles, E.A., Packard, C.P., Calder, P.C., Mathers, J.C., Minihane, A.M., Tourniaire, F., Kesse-Guyot, E., Galan, P., Hercberg, S., Breidenassel, C., González Gross, M., Meirhaeghe, M.M.A., Reboul, E. 2013. *The Journal of Nutrition* 143: 448-456.
- Bowen, P.E., Herbst-Espinosa, S.M., Hussain, E.A., Stacewicz-Sapuntzakis, M. 2002. *The Journal of Nutrition* 132: 3668-3673.
- Bramley, P.M., Elmadfa, I., Kafatos, A., Kelly, F.J., Manios, Y., Roxborough, H.E., Schuch, W., Sheehy, P.J.A., Wagner, K.H. 2000. *Journal of the Science Food and Agriculture* 80: 913-938.
- Breithaupt, D.E., Bamedi, A. y Wirt, U. 2002. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 132: 721-728.
- Britton, G., y Khachik, F. 2009. En G. Britton, S. Liaaen-Jensen, H. Pfander (eds.). *Carotenoids. Vol. 5. Nutrition and Health*, pp. 45-66. Basilea, Boston, Berlin: Birkhäuser.
- Brown, M.J., Ferruzzi, M.G., Nguyen, M.L., Cooper, D.A., Eldridge, A.L., Schwartz, S.J., White, W.S. 2004. *The American Journal of Clinical Nutrition* 80: 396-403.
- Canene-Adams, K. y Erdman Jr, J.W. 2009. En G. Britton, S. Liaaen-Jensen, H. Pfander (eds.). *Carotenoids. Vol. 5. Nutrition and Health*, pp. 115 -148. Basilea, Boston, Berlín: Birkhäuser.
- Canfield, L.M., Guillado, A.R., Neilson, E.M., Yap, H.H., Graver, F.J., Cui, H.A., Blashill, B.M. 1997. *The American Journal of Clinical Nutrition* 66: 52-61.
- Carbonell-Capella, J.M., Buniowska, M., Barba, F.J., Esteve, M.J., Frígola A. 2014. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 13: 155-171.
- Cardinault, N., Tyssandier, V., Grolier, P., Winklhofer-Roob, B.M., Ribalta, J., Bouteloup-Demange, C., Rock, E., Borel, P. 2003. *European Journal of Nutrition* 42: 315-23.
- Carrillo-López, A., Yahia, E.M. y Ramírez-Padilla, G.K. 2010. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 5, 215-221.

REFERENCIAS

- Castenmiller, J.J. y West, C.E. 1997. *Pure and Applied Chemistry* 69: 2145-50.
- Castenmiller, J.J.M. y West, C.E. 1998. *Annual Review of Nutrition* 18: 19-38.
- Castenmiller, J.J.M., West, C.M., Linssen, J.P.H., Van Het Hof, K.H. Voragen, A.G.J. 1999. *The Journal of Nutrition* 129: 349-355.
- Cervantes-Paz, B., Yahia, E.M., Ornelas-Paz, J.J., Gardea-Béjar, A.A., Ibarra-Junquera, V., Pérez-Martínez, J.D. 2012. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60: 10822-10833.
- Chandrika, U.G., Fernando, K. y Ranaweera, K. 2009. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 60: 558-566.
- Chandrika, U.G., Svenberg, U. y Jansz, E.R. 2006. *Journal of the Science of Food and Agricultural* 86: 54-61.
- Chitchumroonchokchai, C., Schwartz, S.J. y Failla, M.L. 2004. *Journal of Nutrition* 134: 2280-2286.
- Chitchumroonchokchai, C. y Failla, M. 2006. *Journal of Nutrition* 136: 588-594.
- Chung, H.Y., Rasmussen, H.M. y Johnson, E.J. 2004. *Journal of Nutrition* 134:1887-1893.
- Clarke, C.A., Purdie, D.M. y Glaser, S.L. 2006. *BMC Cancer* 6: 170.
- Clinton, S.K., Emenhiser, C., Schwartz, S.J., Bostwick, D.G., Williams, A.W., Moore, B.J., Erdman Jr., J.W. 1996. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention* 5: 823-833.
- CNNP. 2010. Sample Meal Patterns for the USDA Food Pattern at the 2000 Calorie Level. United States Department of Agriculture. Disponible en: <http://www.cnpp.usda.gov/Publications/USDAFoodPatterns/SampleMealPatterns.pdf>
- Colle, I., Van Buggenhout, S., Lemmens, L., Van Loey, A.M., Hendrickx, M.E. 2012. *Food Research International* 45: 250-255.
- Colle, I., Lemmens L., Van Buggenhout, S., Met, K., Van Loey A.M., Hendrickx, M.E. 2013. *Food Research International* 51: 32-38.
- Compassi, S., Werder, M., Weber, F.E., Boffelli, D., Hauser, H., y Schulthess, G. 1997. *Biochemistry* 36: 6643-6652.
- Cooper, D.A., Webb, D.R. y Peters, J.C. 1997. *The Journal of Nutrition* 127: 1699S-1709S.
- Courraud, J., Berger, J., Cristol, J.P., Avallone, S. 2013. *Food Chemistry* 136: 871-877.
- Covington, C., Mitchell-Gielegem, A., Lawson, D., Eto, I., Grubbs, C. 2001. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 501:143-152.
- Craft, N.E, Haitema, T.B., Garnett, K.M., Fitch, K.A., Dorey, C.K. 2004. *The Journal of Nutrition Health and Aging* 8: 156-62.

REFERENCIAS

- De Paz, E., Martín, A., Bartolomé, A., Largo, M., Cocero, M.J. 2014. *Food Hydrocolloids* 37: 14-24.
- De Pee, S. y West, C.E. 1996. *European Journal of Clinical Nutrition* 50: S38-S53.
- De Pee, S., West, C.E., Permaesih, D., Martuti, S., Muhilal., Hautvast, J. 1998. *The American Journal of Clinical Nutrition* 68: 1058-1067.
- De Rosso, V.V. y Mercadante, A.Z. 2005. *Food Research International* 38, 989-994.
- De Rosso, V.V. y Mercadante, A.Z. 2007. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 5062-5072.
- De Rosso, V.V. y Mercadante, A.Z. 2009. En T. Bechtold y R. Mussak (eds.). *Handbook of Natural Colorants*. Pp. 53-64. Nueva York: John Wiley and Sons.
- Dias, M.G., Camões, M.F.G.F.C., Oliveira, L. 2008. *Food Chemistry* 109: 815-824.
- Dias, M.G., Camões, M.F.G.F.C. y Oliveira, L. 2009. *Food Chemistry* 113: 808-815.
- Dubois, C., Armand, M., Mekki, N., Portugal, H., Pauli, A.M., Bernard, P.M., Lafont, H., Lairon, D. 1994. *Journal of Lipid Research* 35: 1993-2007.
- During, A., Dawson, H.D. y Harrison, E.H. 2005. *The Journal of Nutrition* 135: 2305-2312.
- During, A., Doraiswamy, S. y Harrison, E.H. 2008. *Journal of Lipid Research* 49: 1715-1724.
- Ekesa, B., Poulaert, M., Davey, M. W., Kimiywe, J., Van den Bergh, I., Blomme, G., Dhuique-Mayer, C. 2012. *Food Chemistry* 133: 1471-1477.
- El-Gorab, M.I., Underwood, B.A. y Loerch, J.D. 1975. *Biochimica et Biophysica Acta* 401: 265-277.
- Evans, M., Beck, M., Elliott, J., Etheve, S., Roberts, R., Schalch, W. 2013. *European Journal of Nutrition* 52: 1381-1391.
- Failla, M.L., Thakkar, S.K. y Kim, J.Y. 2009. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57: 10922-10927.
- Faulks, R.M, Hart, D.J., Wilson, P., Scott, K.J., Southon, S. 1997. *Clinical Science* 93: 585-591.
- Faulks, R.M. y Southon, S. 2005. *Biochimica et Biophysica Acta* 1740: 95-100.
- Ferruzzi, M.G., Failla, M.L. y Schwartz, S.J. 2001. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 2082-2089.
- Fleshman, M.K., Lester, G.E., Riedl, K.M., Kopec, R.E., Narayanasamy, S., Curley, R.W., Schwartz, S.J., Harrison, E.H. 2011. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 4448-4454.
- Forman, M.R, Beecher, G.R., Muesing, R., Lanza, E., Olson, B., Campbell, W.S., McAdam, P., Raymond, E., Schulman, J.D., Graubard, B.I. 1996. *The American Journal of Clinical Nutrition* 64: 559-565.

REFERENCIAS

- Forman, M.R., Johnson, E.J., Lanza, E., Graubard, B.I., Beecher, G.R., Muesing, R. 1998. *The American Journal of Clinical Nutrition* 67: 81-87.
- Fotouhi, N., Meydani, M., Santos, M.S., Meydani, S.N., Hennekens, C.H., Gaziano, J.M. 1996. *The American Journal of Clinical Nutrition* 63: 553-558.
- Fraser, P.D. y Bramley, P.M. 2004. *Progress in Lipid Research* 43: 228-265.
- Furr, H.C. y Clark, R.M. 1997. *Journal of Nutritional Biochemistry* 8: 364-377.
- Furusho, T., Kataoka, E., Yasuhara, T., Wada, M., Masushige, S. 2000. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research* 70, 43-47.
- Gallo, L.L., Newbill, T., Hyun, J., Vahouney, G.V., Treadwell, C.R. 1977. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 156: 277-281.
- Garrett, D.A., Failla, M.L. y Sarama, R.J. 1999. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 4301-4309.
- Gartner, C., Stahl, W. y Sies, H. 1996. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research* 66: 119-125.
- Gartner, C., Stahl, W. y Sies, H. 1997. *The American Journal of Clinical Nutrition* 66: 116-122.
- Gaziano, J.M., Johnson, E.J., Russell, R.M., Manson, J.E., Stampfer, M.J., Ridker, P.M., Frei, B., Hennekens, C.H., Krinsky, N.I. 1995. *The American Journal of Clinical Nutrition* 61: 1248-1252.
- Gibson, R.S., Perlas, L. y Hotz, C.. 2007. *Proceedings of the Nutrition Society* 65: 160-168.
- Godoy, H.T. y Rodríguez-Amaya, D.B. 1998. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 3081-3086.
- Goltz, S.R., Sapper, T.N., Failla, M.L., Campbell W.W., Ferruzzi, M.G. 2013. *Nutrition Research* 33: 358-366.
- Gomes, S., Torres, A.G., Godoy, R., Pacheco, S., Carvahlo, J., Nutti, M. 2013. *Food & Nutrition Bulletin* 34: 65-74.
- Goñi, I., Serrano, J. y Saura-Calixto, F. 2006. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 5382-5387.
- Goodman, D.S., Blomstrand, R., Werner, B., Huang, H.S., Shiratori, T. 1966. *The Journal of Clinical Investigation* 45: 1615-1623.
- Granado, F., Olmedilla, B., Blanco, I., Roja-Hidalgo, E. 1992. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40: 2135-2140.
- Granado, F., Olmedilla, B., GilMartínez, E., Blanco, I. 1998. *British Journal of Nutrition* 80: 445-449.
- Granado, F., Olmedilla, B. y Blanco, I. 2004. *Annals of Nutrition and Metabolism* 48: 251-258.
- Granado, F., Olmedilla, B., Herrero, C., Pérez-Sacristán,

REFERENCIAS

- B., Blanco, I., Blázquez, S. 2006. *Experimental Biology and Medicine* 231: 1733-8.
- Granado-Lorencio, F., Olmedilla-Alonso, B., Herrero-Barbudo, C., Pérez-Sacristán, B., Blanco-Navarro, I., y Blázquez-García, S. 2007. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 6387-6394.
 - Granado-Lorencio, F., Olmedilla-Alonso, B., Herrero-Barbudo, C., Blanco-Navarro, I., Pérez-Sacristán, B., y Blázquez-García, S. 2007a. *Food Chemistry* 102: 641-648.
 - Granado-Lorencio, F., Herrero-Barbudo, C., Blanco-Navarro, I., Pérez-Sacristán, B., Olmedilla-Alonso, B. 2009. *British Journal of Nutrition*, 101: 576-582.
 - Granado-Lorencio, F., Herrero-Barbudo, C., Olmedilla-Alonso, B., Blanco-Navarro, I., Pérez-Sacristán, B. 2010. *Journal of Nutritional Biochemistry* 21: 133-139.
 - Granado-Lorencio, F., Donoso-Navarro, E., Sánchez-Siles, L.M., Blanco-Navarro, I., Pérez-Sacristán, B. 2011. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 11819-11824.
 - Gupta, N.P. y Kumar, R.. 2002. *International Urology and Nephrology* 34: 369-372.
 - Gupta, R., Kopec, R.E., Schwartz, S.J., Balasubramaniam, V. M. 2011. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 7808-17.
 - Hadley, C.W., Miller, E.C., Schwartz, S.J., Clinton, S.K. 2002. *Experimental Biology and Medicine* 227: 869-880.
 - Hamano, P.S. y Mercadante, A.Z. 2001. *Journal of Food and Composition Analysis* 14: 335-343.
 - Handelman, G.K., Snodderly, D.M., Adler, A.J., Russett, M.D., Oratz, E.A. 1992. En L. Packer (ed.). *Methods in epidemiology*, pp. 220-230. San Diego: Academic Press.
 - Harrison, E.H. 1998. *Annual Review of Nutrition* 18: 259-276.
 - Hauser, H., Howell, K., Dawson, R.M.C., y Bowyer, D.E. 1980. *Biochimica et Biophysica Acta* 602: 567-577.
 - Health Canada. 1997. Canada's Food Guide to Healthy Eating. Minister of Public Works and Government Services Canada.
 - Hedrén, E., Díaz, V. y Svanberg, U. 2002. *European Journal of Clinical Nutrition* 56: 425-430.
 - Hempel, J., Amrehn, E., Quesada, S., Esquivel, P., Jiménez, V.M., Heller, A., Carle, R., Schweiggert, R.M. 2014. *Planta* 240: 1037-1050.
 - Henderson, C.T., Mobarhan, S., Bowen, P., Stacewicz-Sapuntzakis, M., Langenberg, P., Kiani, R., Lucchesi, D., Sugerman, S. 1989. *Journal of the American College of Nutrition* 8: 625-635.

REFERENCIAS

- Hollander, D. y Ruble, P.E. 1978. *The American Journal of Physiology* 235: E686-E691.
- Hornero-Méndez, D. y Mínguez-Mosquera, M.I. 2007. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 8: 407-412.
- Hu, X., Jandacek, R.J., y White, W.S. 2000. *The American Journal of Clinical Nutrition* 71: 1170-1180.
- Hui, D.Y. y Howles, P.N. 2002. *Journal of Lipid Research* 43: 2017-2030
- Huo, T., Ferruzzi, M.G., Schwartz, S.J. y Failla, M.L. 2007. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 8950-8957.
- Jalal, F., Nesheim, M.C., Agus, Z., Sanjur, D., Habicht, J.P. 1998. *The American Journal of Clinical Nutrition* 68: 623-629.
- Jatunov, S., Quesada, S., Díaz, C., y Murillo, E. 2010. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 60: 99-104.
- Jeffery, J.L., Turner, N.D. y King S.R. 2012. *Journal of the Science of Food and Agricultural* 92: 2603-2610.
- Johnson, E.J., Krinsky, N.I. y Russell, R.M. 1996. *Journal of the American College of Nutrition* 15: 620-624.
- Johnson, E.J., Hammond, B.R., Yeum, K.J., Qin, J., Wang, X.D., Castaneda, C., Snodderly, M., Russell, R.M. 2000. *The American Journal of Clinical Nutrition* 71: 1555-1562.
- Kabagambe, E.K., Furtado, J., Baylin, A. y Campos, H. 2005. *Journal of Nutrition* 135: 1763-1769.
- Kean, E.G., Bordenave, N., Ejeta, G., Hamaker, B.R., Ferruzzi, M.G. 2011. *Journal of Cereal Science* 54: 450-459.
- Khachik, F., Beecher, G.R., Goli, M.B., Lusby, W.R., Smith, J.C. 1992. *Analytical Chemistry* 64: 2111-2122.
- Khachik, F., Bernstein, P.S. y Garland, D.L. 1997. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 38: 1802-1811.
- Khachik, F., Spangler, C.J., Smith Jr., J.C., Canfield, L.M., Steck, A. y Pfander, H. 1997a. *Analytical Chemistry* 69: 1873-81.
- Khachik, F., Carvalho, L., Bernstein, P.S., Muir, G.J., Zhao, D.Y., Katz, N.B. 2002. *Experimental Biology and Medicine* 227: 845-851.
- Knockaert, G., Lemmens, L., Van Buggenhout, S., Hendrickx, M., Van Loey, A. 2012. *Food Chemistry* 133: 60-67.
- Kopec, R.E., Riedl, K.M., Harrison, E.H., Curley, R.W., Hruszkewycz, D.P., Clinton, S.K., Schwartz, S.J. 2010. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58: 3290-3296.

REFERENCIAS

- La Frano, M.R., De Moura, F.F., Boy, E., Lönnerdal, B., Burri, B.J. 2014. *Nutrition Reviews* 72: 289-307
- Lachance, P.A. 1997. En A. Bendich, R.J. Deckelbaum (eds.). *Preventive Nutrition: The Comprehensive Guide for Health Professionals*, pp. 441-454. Totowa: Humana Press.
- Lechêne de la Porte, P., Aboukail, N., Lafont, H., Lombardo, D. 1987. *Biochimica et Biophysica Acta* 920: 237-246.
- Lee, C.M., Boileau, A.C., Boileau, T.W.M., Williams, A.W., Swanson, K.S., Heintz, K.A., Erdman, J.W. 1999. *The Journal of Nutrition* 129: 2271-2277.
- Li, B., Vachali, P., Frederick, J.M., Bernstein, P.S. 2011. *Biochemistry* 50: 2541-2549.
- Lietz, G., Oxley, A., Boesch-Saadatmandi, C., Kobayashi, D. 2012. *Molecular Nutrition & Food Research* 56: 241-250.
- Livny, O., Reifen, R., Levy, I., Madar, Z., Faulks, R., Southon, S., Schwartz, S.J. 2003. *European Journal of Nutrition* 42: 338-345.
- Lobo, M.V., Huerta, L., Ruiz-Velasco, N., Teixeira, E., De la Cueva, P., Celdran, A., Martín-Hidalgo, A., Vega, M.A., Bragado, R. 2001. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 49: 1253-1260.
- Lobo, G.P., Amengual, J., Palczewski, G., Babino, D., Von Lintig, J. 2012. *Biochimica et Biophysica Acta* 1821:78-87
- Maiani, G., Periago-Castón, M.J., Catasta, G., Toti, E., Goñi-Cambrodón, I., Bysted, A., Granado-Lorencio, F., Olmedilla-Alonso, B., Knuthsen, P., Valoti, M., Böhm, V., Mayer-Miebach, E., Behnlian, D., Schlemmer, U. 2009. *Molecular Nutrition and Food Research*, 53: S194-S218.
- Mein, J.R., Dolnikowski, G., Ernst, H., Russell, R.M., Wang, X.D. 2011. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 506:109-121.
- Meléndez-Martínez, A.J., Vicario, I.M. y Heredia, F.J. 2007. *Food Chemistry* 101, 177-184.
- Meléndez-Martínez, A.J., Stinco, C.M., Liu, C., Wang, X.D. 2013. *Food Chemistry* 138: 1341-1350.
- Meléndez-Martínez, A.J., Paulino, M., Stinco, C.M., Mapelli-Brahm, P., Wang, X.D. 2014. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62: 12399-12406.
- Meléndez-Martínez, A.J., Mapelli-Brahm, P., Benítez-González, A., y Stinco, C.M. 2014a. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 572: 188-200.
- Meléndez-Martínez, A.J., Stinco, C.M., Hernanz, D., Murillo, E., Benítez-González, A. 2014b. *Carotenoid Science*, 18: 131.

REFERENCIAS

- Metzler, C.M. y Huang, D.C. 1983. *Clinical Research Practices and Drug Regulatory Affairs* 1: 109-132.
- Mezadri, T., Pérez-Gálvez, A. y Hornero-Méndez, D. 2005. *European Food Research and Technology* 220: 63-69.
- Micozzi, M.S., Brown, E.D., Edwards, B.K., Bieri, J.G., Taylor, P.R., Khachik, F., Beecher, G.R., Smith, J.C. 1992. *The American Journal of Clinical Nutrition* 55: 1120-1125.
- Mills, J.P., Tumuhimbise, G.A., Jamil, K.M., Thakkar, S.K., Failla, M.L., Tanumihardjo, S.A. 2009. *The Journal of Nutrition* 139: 44-50.
- Minekus, M., Alming, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carrière, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A., Marze, S., McClements, D.J., Ménard, O., Recio, I., Santos, C.N., Singh, R.P., Vegarud, G.E., Wickham, M.S., Weitschies, W., Brodkorb, A. 2014. *Food & Function* 5: 1113-1124.
- Moussa, M., Landrier, J.F., Reboul, E., Ghiringhelli, O., Comera, C., Collet, X., Frohlich, K., Bohm, V., Borel, P. 2008. *The Journal of Nutrition* 138: 1432-1436.
- Moussa, M., Gouranton, E., Gleize, B., Yazidi, C.E., Niot, I., Besnard, P., Borel, P., Landrier, J.F. 2011. *Molecular Nutrition & Food Research* 55: 578-584.
- Mulokozi, G., Hedrén, E. y Svanberg, U. 2004. *Plant Foods for Human Nutrition* 59: 1-9.
- Nantais-Smith, L.M., Covington, C.Y., Nordstrom-Klee, B.A., Grubbs, C.J., Eto, I., Lawson, D.M., Pieper, B.A., Northouse, L.L. 2001. *Nursing Research* 50: 172-177.
- Nierenberg, D.W., Stukel, T.A., Baron, J.A., Dain, B.J., Greenberg, E.R. 1991. *The American Journal of Clinical Nutrition* 53, 1443-1449.
- Niizu, P.Y. y Rodríguez-Amaya, D.B. 2005. *Revista Instituto Adolfo Lutz* 62: 195-199.
- Niizu, P.Y. y Rodríguez-Amaya, D.B. 2003. *Journal of Food Composition and Analysis* 18: 739-749.
- O'Neill, M.E. y Thurnham, D.L. 1998. *The British Journal of Nutrition* 79: 149-159.
- O'Connell, O.F., Ryan, L., O'Brien, N.M. 2007. *Nutrition Research* 27: 258-264.
- Olmedilla, B., Granado, F., Blanco, I., y RojasHidalgo E. 1993. En Waldrom, K., Johnson, I.T., Fenwick, G.K. (eds). *Food and Cancer Prevention: Chemical and Biological Aspects*, pp. 141-145. Cambridge: Royal Society of Chemistry.
- Olmedilla, B., Granado, F., Blanco, I., Gil-Martínez, E. 1998. En Pandalai. S.G. (ed). *Recent Research Developments in Agricultural & Food Chemistry*, Vol. 2, pp. 57-70. Kerala: Research Signpost.

REFERENCIAS

- Olmedilla, B., Granado, F., Southon, S., Wright, A., Blanco, I., Gil-Martínez, E., Van den Berg, H., 2001. *British Journal of Nutrition* 85: 227-38.
- Olmedilla, B., Granado, F., Southon, S., Wright, A.J.A., Blanco, I., Gil-Martínez, E., Van den Berg, H., Corridan, B., Hininger, I., Thurnham, D.I., Chopra M. 2002. *Clinical Science* 102: 447-456.
- Olmedilla, B., Granado, F., Blanco, I., Vaquero, M. 2003. *Nutrition* 19: 21-24.
- Olmedilla-Alonso, B., Beltrán-de-Miguel, B., Estévez-Santiago, R., Cuadrado-Vives, C. 2014. *Nutrition Journal* 13:52.
- Olson, J.A. 1984. En Machlin, L.J. (ed.). *Handbook of Vitamins Nutritional, Biochemical, and Clinical Aspects*, pp. 1-43. Nueva York: Marcel Dekker.
- Ornelas-Paz, J.deJ., Yahia, E.M., Gardea-Bejar, A. 2007. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 6628-6635.
- Ornelas-Paz, J.deJ., Failla, M.L., Yahia, E.M., Gardea, A. 2008. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, 1511-1516.
- Ornelas-Paz, J.deJ., Yahia, E. M. y Gardea, A. 2010. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences* 5: 301-308.
- Paetau, I., Chen, H., Goh, N. M.Y., White, W.S. 1997. *The American Journal of Clinical Nutrition* 66: 1133-1143.
- Paetau, I., Khachik, F., Brown, E.D., Beecher, G.R., Kramer, T.R., Chittams, J., Clevidence, B.A. 1998. *The American Journal of Clinical Nutrition* 68: 1187-1195.
- Parker, R.S. 1996. *The FASEB Journal* 10: 542-551.
- Pasquier, B., Armand, M., Guillon, F., Castelain, C., Borel, P., Barry, J.L., Pieroni, G., Lairon, D. 1996. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 7: 293-302.
- Pérez-Gálvez, A., Martin, H.D., Sies, H., Stahl, W. 2003. *The British Journal of Nutrition* 89, 787-793.
- Pérez-Gálvez, A., Pacheco, Y.M., Bermúdez, B., López, S., Abia, R., Muriana, F.J.G., Villar, J., Garrido-Fernández, J. 2005. *Food Research International* 38: 1097-1102.
- Pérez-Gálvez, A. y Mínguez-Mosquera, M.I. 2005. *Nutrition Research* 25: 631-640.
- Prince, M.R., y Frisoli, J.K. 1993. *The American Journal of Clinical Nutrition* 57: 175-181.
- Qian, C., Decker, E.A., Xiao, H., McClements, D.J. 2012. *Food Chemistry* 135: 1440-1447.
- Ranga Rao, A., Baskaran, V., Sarada, R., Ravishankar, G.A. 2013. *Food Research International* 54: 711-717.
- Rao, A.V. y Shen, H. 2002. *Nutrition Research* 22: 1125-1131.

REFERENCIAS

- Reboul, E., Abou, L., Mikail, C., Ghiringhelli, O., Andre, M., Portugal, H., Jourdheuil-Rahmani, D., Amiot, M.J., Lairon, D., Borel, P. 2005. *Biochemical Journal* 387: 455-461.
- Reboul, E., Richelle, M., Perrot, E., Desmoulins-Malezet, C., Pirisi, V., Borel, P. 2006. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 8749-8755.
- Reboul, E. y Borel, P. 2011. *Progress in Lipid Research* 50: 388-402.
- Ribaya-Mercado, J.D., Solon, F.S., Solon, M.A., Cabal-Barza, M.A., Perfecto, C.S., Tang, G., Solon, J.A., Fjeld, C.R., Rusell, R.M. 2000. *The American Journal of Clinical Nutrition* 72: 455-465
- Richelle, M., Enslin, M., Hager, C., Groux, M., Tavazzi, I., Godin, J.P., Berger, A., Métairon, S., Quaile, S., Piguët-Welsch, C., Sagalowicz, L., Green, H., Fay, L.B. 2004. *The American Journal of Clinical Nutrition* 80: 171-177.
- Riedl, J., Linseisen, J., Hoffmann, J., Wolfram, G. 1999. *The Journal of Nutrition*, 129: 2170-2176.
- Rigtrup, K.M., McEwen, L.R., Said, H.M., Ong, D.E. 1994. *The American Journal of Clinical Nutrition* 60: 111-116.
- Riso, P., Visioli, F., Gardana, C., Grande, S., Brusamolino, A., Galvano, F., Galvano, G., Porrini, M. 2005. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 941-947.
- Riso, P., Brusamolino, A., Contino, D., Martini, D., Vendrame, S., Del Bo, C., Porrini, M. 2010. *Pharmacology Research* 62: 318-21.
- Rock, C.L., Demitrack, M.A., Rosenwald, E.N., Brown, M.B. 1995. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention* 4: 283-88
- Rock, C.L. y Swendseid, M.E. 1992. *The American Journal of Clinical Nutrition* 55: 96-99.
- Rodríguez-Amaya, D.B. 1997. *Carotenoids and Food Preparation: The Retention of Provitamin A Carotenoids in Prepared, Processed and Stored Foods*. Washington, D.C.: OMNI/USAID.
- Rodríguez-Roque, M.J., Rojas-Grau, M.A., Elez-Martínez, P., Martín-Belloso, O. 2013. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61: 1859-1867.
- Roodenburg, A.J., Leenan, R., Van Het Hof, K.H., Westrate, J.A., Tijburg, L.B.M. 2000. *The American Journal of Clinical Nutrition* 71: 1187-1193.
- Ross, M.A., Crosley, L.K., Brown, K.M., Duthie, S.J., Collins, A.C., Arthur, J.R., Duthie, G.G. 1995. *European Journal of Clinical Nutrition* 49: 861-65.
- Ross, A.B., Vuong, L.T., Ruckle, J., Synal, H.A., Schulze-König, T., Wertz, K., Rumbeli, R., Liberman, R.G., Skipper, P.L., Tannenbaum, S.R., Bourgeois, A., Guy, P.A., Enslin, M., Nielsen, I.L.F., Kochhar, S., Richelle, M., Fay, L.B., Williamson, G. 2011. *The American Journal of Clinical Nutrition* 93: 1263-1273.

REFERENCIAS

- Rudd, E.A. y Brockman, H.L. 1984. En Borgstrom, B. y Brockman H.L. (eds.). *Lipases* pp. 185-204. Ámsterdam: Elsevier Science.
- Salvia-Trujillo, L., Qian, C., Martín-Belloso, O., McClements, D.J. 2013. *Food Chemistry* 139: 878-884.
- Schierle, J., Bretzel, W., Bhler, I., Faccin, N., Hess, D., Steiner, K., Schoep, W. 1997. *Food Chemistry* 59: 459-465.
- Schmitz, H.H., Poor, C.L., Wellman, R.B., Erdman, J.W. Jr. 1991. *The Journal of Nutrition* 121: 1613-1621.
- Schweiggert, R.M., Mezger, D., Schimpf, F., Steingass, C.B., Carle, R. 2012. *Food Chemistry* 135: 2736-2742.
- Shiau, A., Mobarhan, S., Stacewicz-Sapontzakis, M., Benya, R., Liao, Y., Ford, C., Bowen, P., Friedman, H., y Frommel, T.O. 1994. *Journal of the American College of Nutrition* 13: 369-375.
- Silva, N.A., Rodrigues, E., Mercadante, A.Z., de Rosso, V.V. 2014. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 5072-5084.
- Sommerburg, O., Meissner, K., Nelle, M., Lenhartz, H., y Leichsenring, M. 2000. *European Journal of Pediatrics* 159: 86-90.
- Stahl, W. y Sies, H. 1992. *The Journal of Nutrition* 122: 2161-2166.
- Stahl, W., Schwarz, W., Sundquist, A.R., Sies, H. 1992. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 294: 173-77.
- Stahl, W. y Sies, H. 2012. *Molecular Nutrition & Food Research* 56: 287-295.
- Stinco, C.M., Rodríguez-Pulido, F.J., Escudero-Gilete, M.L., Gordillo, B., Vicario, I.M., Meléndez-Martínez, A.J. 2013. *Food Research International* 50: 111-20.
- Sugarman, S.B., Mobarhan, S., Bowen, P.E., Stacewicz-Sapuntzakis, M., Langenberg, P. 1991. *Journal of the American College of Nutrition* 10: 297-307.
- Sy, C, Gleize, B., Dangles, O., Landrier, J.F., Veyrat, C.C., Borel, P. 2012. *Molecular Nutrition & Food Research* 56:1385-1397.
- Takkar, S.K., Maziya-Dixon, B., Dixon, A.G.O., Failla, M.L., 2007. *The Journal of Nutrition* 137: 2229-2233.
- Terpstra, V., Van Amersfoort, E. S., Van Velzen, A.G., Kuiper, J., Van Berkel, T.J. 2000. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 20:1860-1872.
- Thakkar, S.K., Maziya-Dixon, B., Dixon, A.G., y Failla, M.L. 2007. *The Journal of Nutrition* 137: 2229-2233.
- Thakkar, S.K. y Failla, M.L. 2008. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 11441-11446.
- Thakkar, S.K., Huo, T., Maziya-Dixon, B., Failla, M.L. 2009. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57: 1344-1348.

REFERENCIAS

- Thürmann, P.A., Stefrfen, J., Zwernemann, C., Aebischer, C.P., Cohn, W., Wendt, G., Schalch, W. 2002. *European Journal of Nutrition* 41: 228-235.
- Thurnhofer, H. y Hauser, H. 1990. *Biochemistry* 29: 2142-2148.
- Tyssandier, V., Cardinault, N., Caris-Veyrat, C., Amiot, M.J., Grolier, P., Bouteloup, C., Azais-Braesco, V., Borel, P. 2002. *The American Journal of Clinical Nutrition* 75: 526-534.
- Tyssandier, V., Reboul, E., Dumas, .F., Bougteloup-Demange, C., Armand, M., Marcand, J., Sallas, M., Borel, P. 2003. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology* 284: 913-923.
- Unlu, N.Z., Bohn, T., Clinton, S.K., Schwartz S. J. 2005. *Journal of Nutrition* 135: 431-436.
- Unlu, N.Z, Bohn, T., Francis, D.M., Nagaraja, H.N., Clinton, S.K., Schwartz, S.J. 2007. *British Journal of Nutrition* 98: 140-146.
- Vachali, P., Li, B., Nelson, K., Bernstein, P.S. 2012. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 519: 32-37.
- Vachali, P.P., Besch, B.M., González-Fernández, F., Bernstein, P.S. 2013. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 539: 181-86.
- Van Bennekum, A., Werder, M., Thuahnai, S.T., Han, C.H., Duong, P., Williams, D.L., Wettstein, P., Schulthess, G., Phillips, M.C., Hauser, H. 2005. *Biochemistry* 44: 4517-4525.
- Van den Berg, H. 1999. *Nutrition Reviews* 57: 1-10.
- Van den Berg, H., Faulks, R., Granado, H.F., Hirschberg, J., Olmedilla, B., Sandmann, G., Southon, S., Stahl, W. 2000. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80: 880-912.
- Van Het Hof, K.H., Gärtner, C., West, C.E., Tijburg, L. 1998. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research* 68:366-370.
- Van Het Hof, K.H., Browuwer, I.A., West, C.E., Haddeman, E., Steegers-Theunissen, R.P. M., Van Dusseldorp, L., Weststrate, J.A., Eskes, T.K.A.B., Hautvast, G.A.J. 1999. *The American Journal of Clinical Nutrition* 70: 261-268.
- Van Het Hof, K.H., De Boer, B.C.J., Tijburg, L.B.M., Lucius, B.R.H.M., Zijp, I., West, C.E., Hautvast, J.G.A.J., Weststrate. J.A. 2000. *Journal of Nutrition*, 130: 1189-1196.
- Van Jaarsveld, P.J., De Wet, M., Harmse, E., Nestel, P., Rodríguez-Amaya, D.B. 2006. *Journal of Food Composition and Analysis* 19: 321-29.
- Van Lieshout, M., West, C.E., Permaesih, D., Wang, Y., Xu, X., Van Breeman, R.B., Creemers, A.F., Verhoeven, M.A., Lugtenburg, J. 2001. *The American Journal of Clinical Nutrition* 73: 949-958.

REFERENCIAS

- Van Vliet, T., Schreurs, W.H.P. y Van den Berg, H. 1995. *The American Journal of Clinical Nutrition* 62: 110-116.
- Victoria-Campos, C.I., Ornelas-Paz, J.J., Yahia, E.M., Jiménez-Castro, J.A., Cervantes-Paz, B., Ibarra-Junquera, V., Pérez-Martínez, J.D., Zamudio-Flores, P.B., Escalante-Minakata, P. 2013. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61:9938-9949.
- Victoria-Campos, C.I., Ornelas-Paz, J.J., Yahia, E.M., Failla, M.L. 2013a. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61: 3642-3653.
- Wang, D.Q.H., Paigen, B., y Carey, M.C. 2001. *Journal of Lipid Research* 42: 1820-1830.
- Wang, J., Wang, Y., Wang, Z., Li, L., Qin, J., Lai, W., Fu, Y., Suter, P.M., Russell, R.M., Grusak, M.A., Tang, G., Yin, S. 2008. *The American Journal of Clinical Nutrition* 87: 1730-1737.
- WCRF/AICR (World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research). 1997. Food, nutrition and the prevention of cancer: a global perspective. Menasha: Banta Book Group.
- Werner, S. y Böhm, V. 2011 *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 1163-1170.
- West, C.E. y Castenmiller, J.J.M. 1998. *International Journal for Vitamin and Nutrition* 68: 371-377.
- Wilson, G. 1990. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics* 15: 159-163.
- Wingerath, T., Stahl, W. y Sies, H. 1995. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 324: 385-390.
- Wingerath, T., Sies, H. y Stahl, W. 1998. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 355: 271-274.
- Xavier, A.A.O., Mercadante, A.Z., Garrido-Fernández, J., Pérez-Gálvez, A. 2014. *Food Research International* 65: 171-176.
- Yahia, E. M., y Ornelas-Paz, J. de J. En *Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry, nutritional value and stability*, ed. L. A. De la Rosa, E. Alvarez-Parrilla, G. A. Gonzalez-Aguilar. 177-222. Ames, IA, USA: Blackwell Publishing. 2010
- Yeum, K. J., y Russell, R. M. 2002. *Annual Review of Nutrition* 22: 483-4504.
- Yong, L. C., Forman, M. R., Beecher, G. R, Graubard, B. I, Campbell, W. S, Reichman, M. E, Taylor, P. R., Lanza, E., Holden, J. M., y Judd, J. T. 1994. *The American Journal of Clinical Nutrition* 60: 223-230.
- You, C. S., Parker, R. S., Goodman, K. J., Swanson, J. E., y Corso, T. N. 1996. *The American Journal of Clinical Nutrition* 64: 177-183.
- Yu, B., Wang, J., Suter, P. M., Russell, R. M., Grusak, M. A., Wang, Y., Wang, Z., Yin S., y Tang, G. 2012. *British Journal of Nutrition* 108: 611-619

REFERENCIAS

- Zino, S., Skeaff, M., Williams, S., y Mann, J. 1997. *British Medical Journal* 314: 1787-1791.
- Zuniga, K.E. y Erdman, J.W. 2011. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 5335-5341.