



Doctoral Thesis

Novel nanoiron and nanozinc compounds: the next generation of food fortificants?

Author(s):

Hilty-Vančura, Florentine

Publication Date:

2011

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-6560053> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

DISS ETH NO. 19537

**Novel Nanoiron and Nanozinc Compounds:
The Next Generation of Food Fortificants?**

A dissertation submitted to
ETH Zurich

For the degree of
Doctor of Sciences

Presented by

Florentine Marianne Hilty-Vančura

Dipl. Chem., Universität Zürich

Born 07.02.1979
Citizen of the Principality of Liechtenstein

Accepted on the recommendation of

Prof. Dr. med. **Michael B. Zimmermann**, examiner
Prof. Dr. **Richard F. Hurrell**, co-examiner
Prof. Dr. **Sotiris E. Pratsinis**, co-examiner

2011

SUMMARY

Background Iron and zinc deficiencies are still major public health problems worldwide. They are most common in developing countries, where children and women are particularly vulnerable due to their high needs of iron and zinc. The main causes for these deficiencies are monotonous, plant-based diets containing poorly bioavailable iron and zinc. Food fortification can be an effective and sustainable strategy to control these deficiencies. Yet, successful iron fortification is still a challenge. Highly bioavailable, water soluble iron fortificants like ferrous sulfate (FeSO_4) often cause unacceptable sensory changes. Poorly acid soluble compounds like ferric pyrophosphate (FePO_4) usually cause fewer sensory changes but they are often poorly bioavailable. However, in preliminary experiments at the ETH Zürich in 2007, nanostructured FePO_4 produced by flame spray pyrolysis (FSP) was shown to be as bioavailable as FeSO_4 in rats (Rohner *et al.* 2007).

Objectives The goals of this thesis were 1) to develop novel iron and zinc containing nanostructured compounds using FSP; 2) to assess their potential bioavailability by using *in-vitro* iron dissolution in 0.1 M HCl (a proxy for bioavailability) and determine their sensory behavior in polyphenol rich food matrices ; 3) to test the relative bioavailability of the most promising compounds in an animal study; 4) to apply these compounds in food systems.

Experiments Iron and zinc containing oxides and phosphates with varying iron:zinc ratios and varying iron:phosphate and iron/zinc:phosphate ratios were produced by FSP to investigate the influence of zinc and phosphate on the dissolution of iron in 0.1 M HCl. In further experiments, phosphate was replaced by magnesium- and calcium-oxide in iron and iron/zinc containing compounds in an effort to minimize color changes induced by the compounds as well as to improve iron bioavailability. The influence of magnesium or calcium doping on iron solubility was investigated in details in iron oxides without zinc. For all compounds, the color change they provoked in different iron-sensitive foods was measured. The relative bioavailability (RBV) of the most promising compounds was assessed in a rat hemoglobin depletion/repletion study with FeSO_4 as comparison. To assess potential toxicology of the compounds, extensive histological analysis and measurements of thiobarbituric acid reactive substances were performed after repletion. Finally the most

promising compounds were tested in a flour storage study measuring lipid degradation. Preliminary results were also obtained from rice noodle extrusion.

Conclusions

In-vitro solubility The results from the dissolution studies showed that the addition of phosphate to $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ and Zn to FePO_4 or $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ positively affected iron dissolution. The same was true for doping $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ or $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{ZnO}$ with Mg or Ca. Thus we concluded that besides SSA, the chemical composition and morphology are also important determinants of iron dissolution at nanoscale.

In-vivo bioavailability In a rat hemoglobin depletion/repletion study we confirmed the high bioavailability of $\text{FePO}_4/\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2$ and $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{ZnO}/\text{MgO}$. Both were as bioavailable as FeSO_4 while $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{ZnO}$ and $\text{FePO}_4/\text{Fe}_2\text{O}_3$ were significantly less bioavailable than FeSO_4 , although their high dissolution rate in diluted acid seemed promising. There was no indication that the iron containing nanostructured particles bypass the normal routes of duodenal iron uptake.

Sensory studies The three most promising compounds in terms of in-vivo bioavailability, FePO_4 (Rohner *et al.* 2007), $\text{FePO}_4/\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2$, and $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{ZnO}/\text{MgO}$, showed similar behavior in chocolate-milk and a banana-milk mixture. However, FePO_4 was superior in fruit yoghurt. In addition, comparing iron without zinc compounds, FePO_4 was superior to $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{MgO}$ because it induced less color changes in extruded rice noodles and lipid oxidation in flour. This suggests $\text{FePO}_4/\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2$ may be superior to $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{ZnO}/\text{MgO}$ in sensory tests.

Thus, our novel iron and zinc containing nanostructured compounds show promise as food fortificants. Especially nanostructured FePO_4 could become an alternative to ferrous fumarate and/or ferric pyrophosphate for the fortification of sensitive food matrices.

We found no indication that the Fe containing nanostructured particles bypass the normal route of duodenal iron uptake, that is, through DMT1. However, the critical question of the route of uptake remains unanswered. To address this issue, we plan to feed our nanostructured compounds, along with ferrous sulfate, to intestinal DMT1 knock-out mice (Gunshin *et al.* 2005). We also plan further experiments to assess iron as well as zinc

bioavailability by using stable isotope absorption studies in humans, when regulatory issues are resolved.

Even if nanostructured iron containing compounds prove to be advantageous in some applications for food fortification, consumers may resist them. Therefore, we plan to study the public perception and potential acceptance of our compounds in cooperation with the Institute for Environmental Decisions at the ETH. However, open communication and a well-considered public information policy would be absolutely critical to ensure consumer acceptance of such products.

References

- Gunshin, H., Y. Fujiwara, A.O. Custodio, C. DiRenzo, S. Robine and N.C. Andrews (2005). "Slc11a2 is required for intestinal iron absorption and erythropoiesis but dispensable in placenta and liver." *J Clin Invest* 115(5): 1258-1266.
- Rohner, F., F.O. Ernst, M. Arnold, M. Hilbe, R. Biebinger, F. Ehrensperger, S.E. Pratsinis, W. Langhans, R.F. Hurrell and M.B. Zimmermann (2007). "Synthesis, characterization, and bioavailability in rats of ferric phosphate nanoparticles." *J Nutr* 137(3): 614-619.

ZUSAMMENFASSUNG

Hintergrund Eisen- und Zinkmangel stellen immer noch ein grosses, weltweites Problem dar. Sie treten besonders häufig in Entwicklungsländer auf, wo vor allem Kinder und Frauen aufgrund ihres erhöhten Bedarfes an Eisen und Zink betroffen sind. Die häufigste Ursache für Mangelerscheinungen sind eine monotone, auf Pflanzen basierte Ernährung mit schlecht bioverfügbarem Eisen und Zink. Lebensmittelanreicherung kann eine effektive und nachhaltige Strategie sein, um diese Mängel zu bekämpfen. Eine erfolgreiche Anreicherung von Lebensmitteln mit Eisen ist jedoch immer noch eine Herausforderung. Gut bioverfügbare, wasserlösliche Eisenverbindungen wie Eisensulfat (FeSO_4) verursachen häufig inakzeptable sensorische Veränderungen. Eisenverbindungen, die nur schlecht säurelöslich sind, wie Eisen(III)pyrophosphate (FePO_4), rufen weniger Farbveränderungen hervor, sind aber häufig auch schlecht bioverfügbar. Im Jahr 2007 konnte in einer Pilotstudie an der ETH Zürich gezeigt werden, dass nanostrukturiertes FePO_4 , das mittels Flammen Spray Pyrolyse (FSP) produziert wurde, in Ratten gleich bioverfügbar ist wie FeSO_4 (Rohner *et al.* 2007).

Ziel Die Ziele dieser Doktorarbeit waren 1) die Entwicklung von neuen nanostrukturierten Eisen- und Zinkverbindungen mittels FSP; 2) die Abschätzung ihrer Bioverfügbarkeit mittels *in-vitro* Löslichkeit in 0.1 M HCl und die Bestimmung ihrer sensorischen Eigenschaften in polyphenolreichen, milchbasierten Lebensmitteln; 3) die Bestimmung der relativen Bioverfügbarkeit der vielversprechendsten Verbindungen in einer Tierstudie; und 4) die Anwendung der Verbindungen in Lebensmitteln.

Experimente Eisen- und Zink-enthaltende Oxide und Phosphate mit variierenden Eisen:Zink, Eisen:Phosphat und Eisen/Zink:Phosphat Verhältnissen wurden mittels FSP produziert, und der Einfluss von Zink und Phosphat auf die Eisenlöslichkeit in 0.1 M HCl wurde untersucht. In weiteren Versuchen wurde Phosphat durch Magnesium- und Kalziumoxid in Eisen- und gemischten Eisen/Zinkoxiden ersetzt, um Farbveränderungen zu minimieren und die Bioverfügbarkeit zu optimieren. Der Einfluss der Dotierung mit Magnesium und Kalzium auf die Eisenlöslichkeit wurde in Eisenoxiden detailliert untersucht. Alle Verbindungen wurden in polyphenolreichen Lebensmitteln, die empfindlich auf Eisen reagieren, getestet und die verursachten Farbveränderungen gemessen. Die Bioverfügbarkeit der

erfolgsversprechendsten Verbindungen wurde in einer Hämoglobin Depletions/Repletions Studie in Ratten getestet und mit FeSO_4 verglichen. Um toxische Nebenwirkungen zu erkennen wurden extensive histologische Analysen und Messungen von Thiobarbitursäure-reaktiven Substanzen durchgeführt. Zum Abschluss wurde eine Auswahl von Verbindungen in einer Mehllagerungsstudie getestet und die Fettoxidation gemessen. Vorläufige Resultate zur Extrusion von Reismudeln liegen ebenfalls vor.

Schlussfolgerungen

In-vitro Löslichkeiten Die Resultate der Löslichkeitsstudien zeigen, dass die Zugabe von Phosphaten zu $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ und von Zink zu FePO_4 und $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ die Löslichkeit von Eisen positiv beeinflusst. Das gleiche gilt auch für das Dotieren von $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ oder $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{ZnO}$ mit Magnesium oder Kalzium. So haben wir festgestellt, dass neben der spezifischen Oberfläche auch die chemische Zusammensetzung und Morphologie wichtige Faktoren der Eisenlöslichkeit (stellvertretend für die Bioverfügbarkeit) im Nanobereich sind.

In-vivo Bioverfügbarkeit In einer Hämoglobin Depletions/Repletions Studie in Ratten konnten wir die hohe Bioverfügbarkeit von $\text{FePO}_4/\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2$ und $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{ZnO}/\text{MgO}$ bestätigen. Beide waren gleich bioverfügbar wie FeSO_4 , während $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{ZnO}$ und $\text{FePO}_4/\text{Fe}_2\text{O}_3$ deutlich weniger bioverfügbar waren als FeSO_4 , obwohl ihre hohe Auflösungs geschwindigkeit in verdünnter Säure vielversprechend schien.

Sensorische Untersuchungen Die drei aussichtsreichsten Verbindungen im Hinblick auf in-vivo Bioverfügbarkeit, FePO_4 (Rohner et al. 2007), $\text{FePO}_4/\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2$ und $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{ZnO}/\text{MgO}$ zeigten ein ähnliches Verhalten in Schokoladen-Milch und einem Banane-Milch-Gemisch. Allerdings führte FePO_4 in einem Fruchtjoghurt zu einer geringeren Farbveränderung. Darüber hinaus war FePO_4 besser als $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{MgO}$ wenn nur Eisenverbindungen ohne Zink verglichen wurden, weil es weniger Farbänderungen in extrudierten Reismudeln und geringere Lipidoxidation in Mehl hervorrief. Dies deutet darauf hin, dass auch $\text{FePO}_4/\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2$ dem $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{ZnO}/\text{MgO}$ in Bezug auf sensorische Eigenschaften überlegen sein könnte.

Unsere neuartigen Eisen- und Zink- enthaltenden, nanostrukturierte Verbindungen scheinen daher für Lebensmittelanreicherung vielversprechend zu sein. Insbesondere zur

Anreicherung von empfindlichen Lebensmitteln könnte sich nanostrukturiertes FePO_4 als eine Alternative zu Eisenfumarat und Eisenpyrophosphat etablieren.

Wir fanden keinen Hinweis darauf, dass das Eisen aus nanostrukturierten Partikeln die normale Aufnahme im Zwölffingerdarm, d.h. durch DMT1, umgeht. Allerdings bleibt die wichtige Frage der Art und Weise der Aufnahme unbeantwortet. Um dieses Problem anzugehen, planen wir, unsere nanostrukturierten Verbindungen in darm-spezifischen DMT1 Knock-out-Mäusen zu testen (Gunshin et al. 2005). Sobald die rechtlichen Fragen geklärt sind, möchten wir sowohl die Eisen- wie auch die Zink-Bioverfügbarkeit in einer Absorptionsstudie mit stabilen Isotopen in Menschen testen.

Selbst wenn sich unsere nanostrukturierten eisenhaltigen Verbindungen in einigen Anwendungen als vorteilhaft erweisen, kann es immer noch sein, dass sie von den Verbrauchern nicht akzeptiert werden. Daher planen wir, die öffentliche Wahrnehmung und potenzielle Akzeptanz unserer Verbindungen in Zusammenarbeit mit dem Institut für Umweltentscheidungen an der ETH zu untersuchen. Eine offene Kommunikation und gute Informationspolitik gegenüber der Öffentlichkeit sind entscheidend für die Akzeptanz beim Verbraucher.

References

- Gunshin, H., Y. Fujiwara, A.O. Custodio, C. DiRenzo, S. Robine and N.C. Andrews (2005). "Slc11a2 is required for intestinal iron absorption and erythropoiesis but dispensable in placenta and liver." *J Clin Invest* 115(5): 1258-1266.
- Rohner, F., F.O. Ernst, M. Arnold, M. Hilbe, R. Biebinger, F. Ehrensperger, S.E. Pratsinis, W. Langhans, R.F. Hurrell and M.B. Zimmermann (2007). "Synthesis, characterization, and bioavailability in rats of ferric phosphate nanoparticles." *J Nutr* 137(3): 614-619.