

# Optimizing zinc absorption from zinc fortified cereal staples

**Doctoral Thesis**

**Author(s):**

Brnić Bontognali, Marica

**Publication date:**

2013

**Permanent link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-010182327>

**Rights / license:**

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

---

DISS. ETH NO. 21506

**OPTIMIZING ZINC ABSORPTION FROM ZINC FORTIFIED CEREAL STAPLES**

A dissertation submitted to  
ETH ZURICH

for the degree of  
**Doctor of Sciences**

presented by

**MARICA BRNIĆ BONTOGNALI**

MSc ETH Food Sc, ETH Zurich

born 01.09.1982

citizen of Croatia

accepted on the recommendation of  
Prof. Dr. med. Michael B. Zimmermann, examiner  
Prof. Dr. Richard F. Hurrell, co-examiner  
Dr. Rita Wegmüller, co-examiner  
Dr. Sonja Y. Hess, co-examiner

2013

**ABSTRACT**

**Background** Zinc deficiency is widespread in low-income countries and leads to immunity and growth dysfunctions. It is mainly caused by an inadequate zinc intake resulting from diets based almost exclusively on cereal staples. Nutritional zinc supply from cereals is limited by their inherently low zinc content, as compared to animal foods, and by their naturally high content of phytic acid, known to inhibit zinc absorption. Zinc-fortification of cereals (including conventional mass fortification, complementary food fortification, or biofortification) offers an efficacious mean of increasing zinc intake, but strategies are needed to overcome the inhibitory effect of phytic acid and other potential absorption inhibitors, such as polyphenols, on the absorption of the added zinc.

**Aims** The aims of this thesis were to investigate potential factors influencing the absorption of zinc from zinc fortified cereal foods and to determine whether zinc added through fortification or increased by biofortification is absorbed differently.

**Experiments** A series of single meal zinc absorption studies were carried out in adults in Switzerland and young children in Burkina Faso, using the double stable isotope tracer ratio method with urine analysis, and a single blind, crossover design.

*Manuscript 1:* A series of zinc absorption studies in adults investigated the effect of the following factors on zinc absorption from maize and sorghum porridges fortified with zinc (as ZnSO<sub>4</sub> or ZnO) to levels of ~3 mg/meal: the addition of the phytic acid-degrading enzyme phytase immediately prior to consumption of the test meal; the ability of EDTA at different EDTA:Zn molar ratios to enhance zinc absorption from water soluble (ZnSO<sub>4</sub>) and water insoluble (ZnO) zinc compounds; the influence of sorghum polyphenols on zinc absorption in the presence and absence of phytic acid; and the ability of EDTA to overcome any potential inhibition of zinc absorption by polyphenols.

The results showed that adding phytase to the maize porridge immediately prior to consumption increased the absorption of zinc as ZnSO<sub>4</sub> by 82 % (from 8.7 % to 15.8 %;  $P < 0.001$ ); adding Na<sub>2</sub>EDTA at an EDTA:Zn molar ratio of 1:1 increased the absorption of zinc as ZnSO<sub>4</sub> by 32 % (from 10.0 % to 13.2 %;  $P = 0.01$ ), but had no influence at higher EDTA:Zn molar ratios or on absorption of zinc as ZnO; zinc absorption was slightly higher from ZnSO<sub>4</sub> (10.0 %) than from ZnO (7.3 %); sorghum polyphenols had no effect on the absorption of zinc

(as ZnSO<sub>4</sub>) from fortified, dephytinized sorghum porridges, but decreased zinc absorption by 21 % from phytic acid rich sorghum porridges (from 10.7 %; to 8.4 %;  $P < 0.02$ ); and the combined inhibitory effect of polyphenols and phytic acid in sorghum was overcome by EDTA.

*Manuscript 2:* The ability of the phytic acid-degrading enzyme phytase to improve zinc absorption from a cereal meal when added immediately before consumption was investigated in 12-24 month old Burkinabe children consuming a millet-based complementary food fortified with zinc (as ZnSO<sub>4</sub>) to a level of 1.3 mg/meal. In addition, a potential new indicator of zinc status, the rapidly exchangeable zinc pool (EZP), was quantified isotopically in the Burkinabe children habitually consuming a plant based diet.

Adding phytase to the meal resulted in a 68 % increase in zinc absorption (from 9.5 % to 16.0 %;  $P < 0.0001$ ) from the millet-based porridge. The EZP ranged from 2.2 to 4.5 mg/Kg, with a mean of  $3.6 \pm 0.5$  mg/Kg. EZP was in the expected range but did not correlate with plasma zinc or zinc absorption.

*Manuscript 3:* Zinc absorption by adults from a rice porridge made from hydroponically biofortified rice, intrinsically labeled with <sup>70</sup>Zn, was compared to that from a porridge made from a control rice of the same variety fortified with <sup>70</sup>ZnSO<sub>4</sub>.

Porridges had the same total zinc content (1.1 mg/meal) and phytic acid level. The mean zinc absorption from the biofortified rice was 25.1 %, compared to 20.8 % ( $P = 0.076$ ) from the fortified rice.

**Conclusions** The results from this thesis provide several ways for optimizing zinc absorption from zinc fortified foods. The most important finding is that the phytase enzyme added to cereal porridges immediately prior to consumption can degrade phytic acid during digestion in both adults and children and can substantially increase zinc absorption. Its potential addition to micronutrient powders and lipid based supplements for home fortification may be of important public health significance. Another potential additive for increasing the absorption of zinc fortification compounds is EDTA, although this only appears to improve absorption from soluble zinc fortification compounds such as zinc sulfate and not from insoluble compounds such as zinc oxide. EDTA was shown to overcome the combined inhibitory effects of phytic acid and polyphenols in zinc sulfate fortified sorghum porridges.

Sorghum polyphenols alone however did not inhibit zinc absorption, but they intensified the inhibitory effect of phytic acid.

Concerning the choice of zinc fortification compounds, the results confirm that there is little difference in absorption between water soluble and water insoluble zinc fortification compounds. Adequate absorption can be obtained with water insoluble ZnO making cost and sensory properties the most important criteria for selection.

In relation to the absorption of biofortification zinc, the results relate only to the agronomic practice of biofortification by soil fertilization. Zinc absorption from intrinsically labeled biofortified rice grown in hydroponic culture was similar that from fortification zinc added to control rice in the form of zinc sulfate. This suggests that absorption of the biofortification zinc was similarly influenced by phytic acid and other food components as absorption of the fortification zinc. Biofortification of rice via soil fertilization with zinc would thus appear to be as good an intervention strategy to combat zinc deficiency as the conventional zinc fortification of foods.

**RIASSUNTO**

**Premessa** La carenza di zinco è un problema diffuso nei paesi poveri che provoca problemi di crescita e disfunzioni al sistema immunitario. Questa carenza è principalmente causata da un apporto insufficiente di zinco dovuto a un'alimentazione dominata dai cereali che, rispetto agli alimenti di origine animale, contengono pochissimo zinco. Inoltre, i cereali contengono acido fitico che inibisce l'assimilazione del già poco zinco in essi presente. La fortificazione di cereali con zinco (inclusa la fortificazione tradizionale, la fortificazione degli alimenti complementari e la biofortificazione) rappresenta una strategia efficace per aumentarne l'apporto. Tuttavia, è necessario sviluppare metodi che permettono di mitigare gli effetti inibitori dell'acido fitico, e di altri potenziali inibitori come ad esempio i polifenoli, che altrimenti riducono sensibilmente l'assorbimento dello zinco aggiunto tramite i processi di fortificazione.

**Obiettivi della ricerca** Gli obiettivi di questo lavoro di dottorato erano quelli d'identificare i fattori che influenzano l'assorbimento dello zinco da cereali fortificati e di determinare se lo zinco aggiunto tramite metodi di fortificazione tradizionali viene assimilato diversamente da quello aggiunto con metodi di biofortificazione.

**Esperimenti** Una serie di studi di assorbimento dello zinco (comprendenti un unico pasto) sono stati svolti con adulti in Svizzera e con bambini in Burkina Faso, effettuando uno studio crossover - singolo cieco basato sul rapporto tra due isotopi stabili traccianti misurati nelle urine.

*Manoscritto 1:* Tramite esperimenti con adulti, è stato valutato l'effetto dei seguenti fattori sull'assorbimento dello zinco (come  $ZnSO_4$  o  $ZnO$ ) da una polentina di mais e sorgo arricchita fino ad ottenere dei valori di circa 3 mg a pasto: l'aggiunta, immediatamente prima del consumo del pasto, dell'enzima phytase, che ha la proprietà di degradare l'acido fitico; la proprietà dell'EDTA (aggiunto in differenti rapporti molarli EDTA/Zn) di aumentare l'assorbimento dello zinco da molecole solubili ( $ZnSO_4$ ) e non solubili ( $ZnO$ ) in acqua; l'effetto dei polifenoli presenti nel sorgo nell'assorbimento dello zinco in presenza e in assenza di acido fitico; e la proprietà dell'EDTA nel prevenire l'effetto inibitorio dei polifenoli nell'assorbimento dello zinco.

I risultati hanno dimostrato che: l'aggiunta dell'enzima phytase alla polentina di mais immediatamente prima del consumo del pasto aumentano l'assorbimento dello zinco (aggiunto come  $ZnSO_4$ ) dell' 82% (dall' 8.7% al 15.8%,  $P < 0.001$ ); l'aggiunta di  $Na_2EDTA$  a un rapporto molare EDTA:Zn pari a 1:1 aumentano l'assorbimento dello zinco (aggiunto come  $ZnSO_4$ ) del 32 % (dal 10.0 % al 13.2 %;  $P = 0.01$ ), ma non ha alcun effetto a rapporti molari EDTA:Zn più elevati, o se lo zinco è aggiunto come ZnO; l'assorbimento dello zinco è lievemente più alto se aggiunto come  $ZnSO_4$  (10.0 %) piuttosto che come ZnO (10.0 %); i polifenoli del sorgo non influenzano l'assorbimento dello zinco (aggiunto come  $ZnSO_4$ ) assunto da una polentina di sorgo defitinizzata, ma riducono l'assorbimento dello zinco del 21 % (dal 10.7 %; all' 8.4 %;  $P < 0.02$ ) se assunto da una polentina di sorgo ricca in acido fitico; e l'EDTA previene l'effetto inibitorio combinato dei polifenoli e dell'acido fitico presenti nel sorgo.

*Manoscritto 2:* La proprietà dell'enzima phytase (che degrada l'acido fitico) di migliorare l'assimilazione dello zinco se aggiunto immediatamente prima del consumo di un pasto di cereali è stata valutata in uno studio con bambini del Burkina Faso di 12-24 mesi, che hanno consumato un alimento complementare a base di miglio fortificato con zinco fino a raggiungere una concentrazione di 1.3 mg/pasto. Inoltre, un nuovo potenziale indicatore dello stato di zinco, detto *rapidly exchangeable zinc pool* (EZP), è stato quantificato isotopicamente in bambini burkinabesi la cui dieta abituale è a base di vegetali.

L'aggiunta dell'enzima phytase al pasto ha causato un aumento del 68 % (dal 9.5 % al 16.0 %;  $P < 0.0001$ ) nell'assorbimento dello zinco dalla polentina a base di miglio. I valori misurati dell'EZP erano compresi tra 2.2 e 4.5 mg/Kg. Tali valori erano previsti, ma non hanno mostrato alcuna correlazione con la concentrazione di zinco nel plasma o con la quantità di zinco assorbita.

*Manoscritto 3:* L'assorbimento dello zinco in adulti che hanno consumato una polentina di riso biofortificata idroponicamente e intrinsecamente marcata con  $^{70}Zn$  è stato comparato all'assorbimento da una polentina fatta con la stessa varietà di riso, fortificata con  $^{70}ZnSO_4$ . Le due polentine avevano lo stesso contenuto totale di zinco (1.1. mg/pasto) e lo stesso contenuto di acido fitico.

L'assorbimento medio dal riso biofortificato è risultato essere del 25.1 %, rispetto al 20.8 % ( $P = 0.076$ ) assorbito dallo stesso riso fortificato tradizionalmente.

**Conclusioni** I risultati di questa tesi hanno permesso di identificare diverse strategie per ottimizzare l'assorbimento dello zinco da alimenti fortificati. La scoperta più importante consiste nel fatto che l'enzima phytase, se aggiunto a una polentina di cereali immediatamente prima del consumo, può degradare l'acido fitico durante la digestione sia negli adulti che nei bambini, aumentando notevolmente l'assorbimento dello zinco. L'aggiunta di questo enzima ai micronutrienti in polvere e ai supplementi a base di lipidi destinati alla fortificazione casalinga potrebbe avere un impatto significativo sulla salute pubblica. Un altro potenziale additivo per migliorare l'assorbimento dello zinco sembra essere l'EDTA, malgrado migliori l'assorbimento esclusivamente quando lo zinco usato per la fortificazione viene aggiunto come solfato di zinco, e non nel caso in cui vengono usate molecole insolubili come l'ossido di zinco. È stato dimostrato che l'EDTA può prevenire l'effetto inibitorio combinato dell'acido fitico e dei polifenoli in polentine di sorgo fortificate con solfato di zinco. I polifenoli presenti nel sorgo, se considerati singolarmente, non inibiscono l'assorbimento dello zinco, tuttavia, intensificano l'effetto inibitorio dell'acido fitico. Riguardo alla scelta della molecola di zinco da usare nel processo di fortificazione, i risultati confermano che c'è poca differenza nell'assorbimento indipendentemente se vengono usate molecole solubili o non solubili in acqua. Un assorbimento adeguato può essere ottenuto anche con ZnO insolubile in acqua, rendendo i costi e le proprietà sensoriche i criteri più importanti nella scelta.

Per quel che concerne l'assorbimento dello zinco aggiunto tramite biofortificazione, i risultati riguardano esclusivamente la pratica agronomica di fortificare tramite la fertilizzazione del terreno. L'assorbimento dello zinco da riso biofortificato cresciuto in culture idroponiche e marcato intrinsecamente è risultato essere simile a quello assorbito da un riso fortificato a partire da solfato di zinco. Questo suggerisce che l'assorbimento di zinco biofortificato è influenzato dall'acido fitico e altre molecole presenti negli alimenti in modo analogo a quello dello zinco fortificato tradizionalmente. La biofortificazione del riso tramite la fertilizzazione del suolo sembra dunque essere una strategia per combattere la carenza di zinco non meno efficace dei convenzionali metodi di fortificazione.