

Los polifenoles de los alimentos y la salud

F. A. Tomás-Barberán

GRUPO DE INVESTIGACIÓN EN CALIDAD, SEGURIDAD Y BIOACTIVIDAD DE ALIMENTOS DE ORIGEN VEGETAL, CEBAS (CSIC). MURCIA

RESUMEN

Estudios epidemiológicos han puesto en evidencia el papel que tienen los alimentos de origen vegetal en la prevención de enfermedades cardiovasculares, cáncer y enfermedades neurodegenerativas. Los antioxidantes naturales presentes en estos alimentos, entre los que destacan los polifenoles, pueden ser responsables de esta actividad. La biodisponibilidad de los polifenoles naturales de los alimentos es muy variable, dependiendo del tipo de metabolito, y la mayoría de ellos son metabolizados por los microorganismos del colon antes de ser absorbidos. Por otra parte, los procesos tecnológicos y los hábitos alimentarios y de elaboración de alimentos de los consumidores también afectan considerablemente a la ingesta de estos metabolitos antioxidantes y además a su biodisponibilidad y bioactividad. En el presente trabajo se resume la actividad biológica de los polifenoles de los alimentos, su biodisponibilidad y los diferentes factores que pueden afectar a su contenido y propiedades biológicas.

Palabras clave: Polifenoles. Enfermedades cardiovasculares. Cáncer. Enfermedades neurodegenerativas. Biodisponibilidad. Metabolismo. Procesado. Conservación. Hábitos alimentarios.

ABSTRACT

Epidemiological studies have shown the effect of plant-derived food consumption in the prevention of cardiovascular and neurodegenerative diseases and cancer. The natural antioxidants, among which polyphenols are very relevant, present in these food products can be responsible for this health-promoting activity. Food polyphenol bioavailability is very variable, depending on the type of metabolite, and most polyphenols are largely metabolized by the gut microorganisms before they are absorbed. In addition, technological processes and consumer habits affect considerably the antioxidant metabolites ingested and their bioavailability and bioactivity. In the present work, the biological activity of food polyphenols, their bioavailability and the factors affecting their content and biological properties are reviewed.

Key words: Polyphenols. Cardiovascular diseases. Cancer. Neurodegenerative diseases. Bioavailability. Metabolism. Processing. Storage. Consumer habits.

INTRODUCCIÓN

Existen numerosas evidencias que apoyan los efectos beneficiosos para la salud de los alimentos de origen vegetal en la prevención de enfermedades crónicas relacionadas con procesos oxidativos (1). Los efectos que estos alimentos producen sobre nuestra fisiología son evidentes para la mayoría de las personas adultas, bien por experiencias personales, bien por información de los profesionales de la salud, o por divulgación de los resultados de investigación que aparecen en los medios de comunica-

ción. Esta información es mucho menos sensible para los jóvenes y los niños, lo que hace que sus hábitos alimentarios sean menos saludables.

Este papel beneficioso va más allá del que se podría atribuir a los constituyentes nutritivos de los alimentos (lípidos, proteínas, carbohidratos, micronutrientes) y en muchos casos se asocia a la presencia de sustancias antioxidantes naturales en los alimentos. Estos efectos sólo tienen reflejo en la fisiología cuando forman parte de un hábito alimentario que hace que se ingieran estas sustancias durante un largo periodo de tiempo, cuando los síntomas de la enfermedad que

ayudan a combatir, todavía no han aparecido (2). Esto se debe a que se trata de moléculas con relativamente baja actividad biológica, sobre todo cuando los comparamos con fármacos, lo que dificulta considerablemente probar su actividad en experimentos que se lleven a cabo durante periodos limitados de tiempo, como es el caso de la mayoría de los experimentos farmacológicos. Para estudiar esta actividad, que sólo se hace evidente a largo plazo, es necesario recurrir a estudios de tipo epidemiológico.

Estos efectos beneficiosos se han relacionado con la existencia de determinados metabolitos característicos de los vegetales, que desde un punto de vista bioquímico son conocidos como metabolitos secundarios vegetales, pero también se les conoce como sustancias fitoquímicas o fitonutrientes. En la presente revisión actualizaremos los conocimientos sobre el papel de los polifenoles de los alimentos de origen vegetal en la prevención de enfermedades y los factores que pueden afectar a su contenido en alimentos y a su biodisponibilidad y actividad.

COMPUESTOS BIOACTIVOS EN ALIMENTOS VEGETALES

En el reino vegetal podemos distinguir cuatro grandes grupos de compuestos fitoquímicos: sustancias fenólicas, sustancias terpénicas, sustancias azufradas y sustancias nitrogenadas (alcaloides). De estos cuatro grupos, son los tres primeros los que tienen mayor importancia como constituyentes de las frutas y hortalizas y los alimentos derivados con relevancia en la alimentación humana y los polifenoles son los que se encuentran de forma general en todos los alimentos de origen vegetal. Los compuestos nitrogenados suelen ser biológicamente muy activos, pudiendo dar lugar a problemas de toxicidad aun en cantidades muy bajas. Por esta razón, en general, los programas de mejora y selección de vegetales se han dirigido a tratar de reducir el contenido en estos compuestos potencialmente tóxicos (es, por ejemplo, el caso del alcaloide solanina presente en la patata).

Las sustancias fenólicas o polifenoles constituyen un grupo muy numeroso de sustancias que incluyen familias de compuestos con estructuras diversas (Fig. 1), desde algunas relativamente simples, como los derivados de ácidos fenólicos, hasta moléculas poliméricas de relativamente elevada masa molecular, como los taninos hidrolizables y condensados (Fig. 2). Los polifenoles pueden ser divididos en varios subgrupos atendiendo a su estructura básica. Los flavonoides, con estructura básica C6-C3-C6, incluyen a las antocianinas, los flavonoles y flavonas, las flavanonas, chalconas y dihidrochalconas, las isoflavo-

nas y los flavan-3-oles (Fig. 1). Otro subgrupo importante es el de los fenil propanoides que incluye a los derivados de ácidos hidroxicinámicos (cafeico, ferúlico, sinápico, p-cumárico). También tienen importancia los estilbenoides (resveratrol) y los derivados del benzoico (ácido gálico y elágico, etc.). Sólo de flavonoides se conocen más de 5.000 compuestos diferentes en la naturaleza. Muchos compuestos fenólicos son en parte responsables de las propiedades organolépticas de los alimentos de origen vegetal y por tanto tienen importancia en la calidad de los mismos. Así, entre éstos hay pigmentos como las antocianinas, responsables de los tonos rojos, azules y violáceos característicos de muchas frutas (fresas, ciruelas, uvas, etc.), hortalizas (berenjena, lombarda, rábano, etc.) y del vino tinto, o los flavonoles, de tonalidad crema-amarillenta, que están presentes principalmente en las partes externas de frutas y hortalizas (3). Hay polifenoles que tienen sabor amargo, como determinadas flavanonas de los cítricos (naringina de los pomelos, neohesperidina de las naranjas amargas) o la oleuropeína presente en aceitunas. Las proantocianidinas (taninos condensados) y los taninos hidrolizables confieren astringencia a los frutos y algunos fenoles sencillos, tienen importancia en el aroma de determinadas frutas, como el eugenol en los plátanos. Los derivados de ácidos hidroxicinámicos, como cafeico, ferúlico y sinápico, están presentes en un buen número de frutas y hortalizas y alimentos derivados, y en algunos casos constituyen los polifenoles mayoritarios; aunque no tienen un impacto directo sobre las características organolépticas de los alimentos que los contienen, indirectamente pueden afectar de modo negativo a la calidad si son oxidados por las enzimas oxidativas que se encuentra naturalmente en los tejidos vegetales, y dan lugar a la formación de polímeros pardos que imparten al producto un aspecto no siempre deseable (4).

Desde el punto de vista de su actividad biológica muchos polifenoles tienen propiedades captadoras de radicales libres, lo que les confiere actividad antioxidante, que podría estar relacionada con la prevención de enfermedades cardiovasculares y de algunos tipos de cáncer. Existen también sustancias con actividad estrogénica (fitoestrógenos), como las isoflavonas, los lignanos y el estilbeno resveratrol, mientras que otros, como los taninos, son capaces de fijar metales y proteínas, lo que afecta a la biodisponibilidad de éstos y puede estar en el origen de algunos efectos inespecíficos (por ejemplo, antimicrobianos), o prevención de enfermedades neurodegenerativas (3, 4).

RADICALES LIBRES Y ENVEJECIMIENTO

Detrás de muchas enfermedades crónicas, cuya aparición es retrasada y su gravedad disminuida por

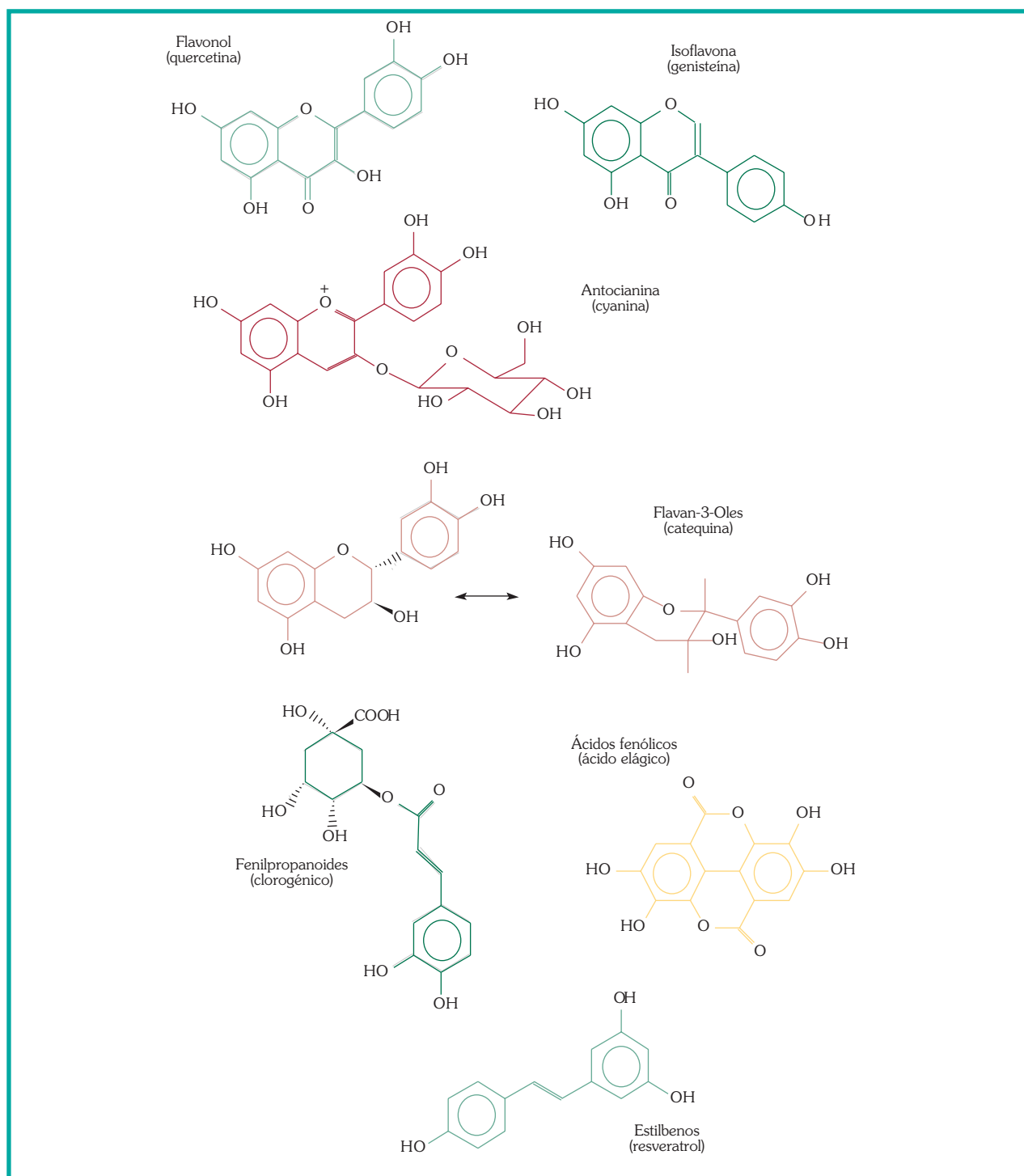


Fig. 1. Principales grupos de polifenoles de alimentos.

el consumo de alimentos de origen vegetal se encuentran procesos de estrés oxidativo mediados por radicales libres.

El estrés oxidativo conduce progresivamente a una disfunción celular que acaba con la muerte de dichas células. Este estrés se podría definir como un desequilibrio entre los pro-oxidantes y/o radicales li-

bres por una parte y los sistemas antioxidantes del organismo por otra.

El oxígeno, que es necesario para la vida, es también indirectamente responsable de muchos efectos negativos. Éstos son debidos a la producción de radicales libres, que son tóxicos para las células (anión superóxido, radical hidroxilo, peróxido de

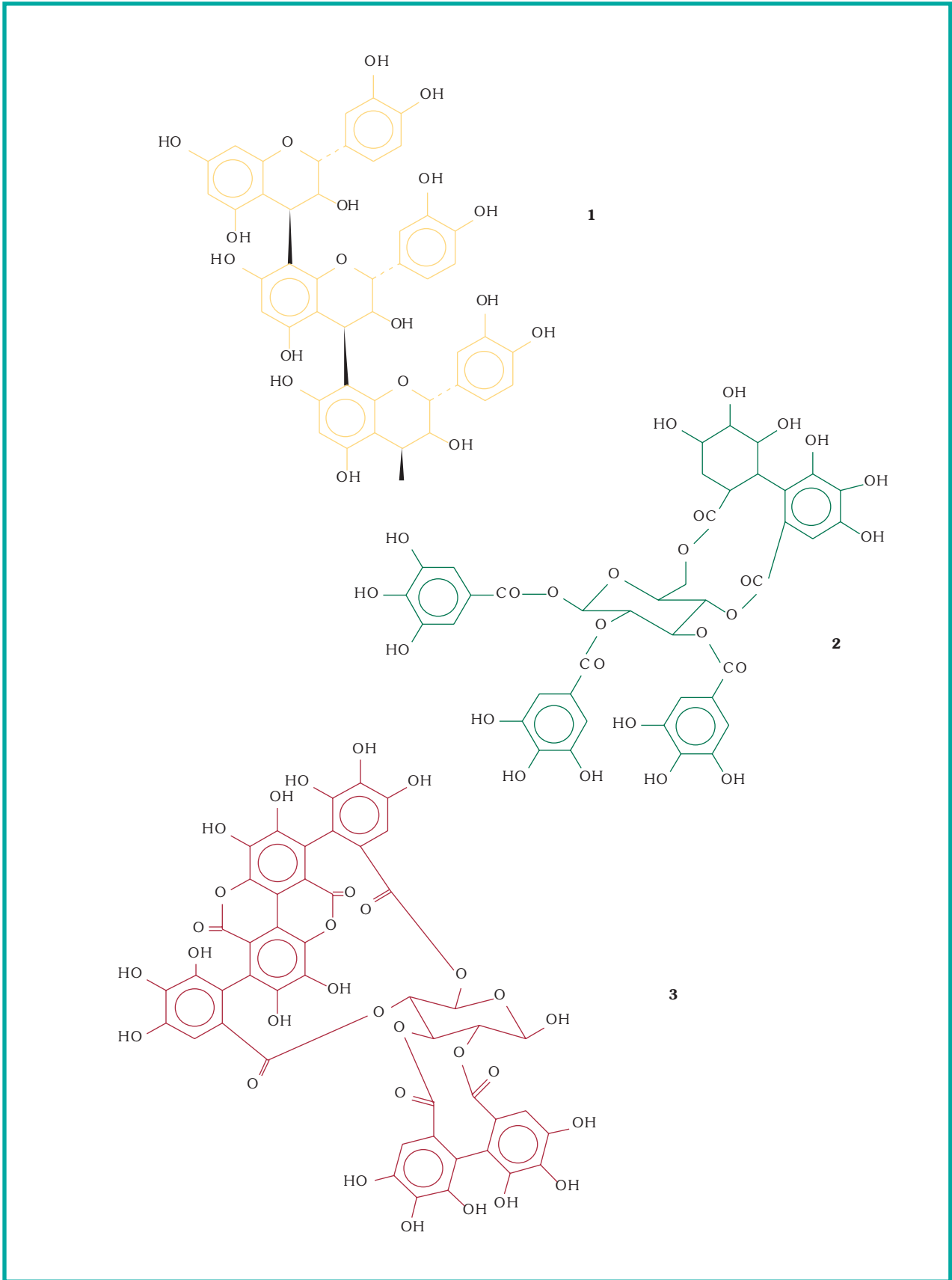


Fig. 2. Estructuras de polifenoles poliméricos. 1. Procianidinas (taninos condensados). 2. Elagitaninos. 3. Punicalagina, un elagitanino de la granada.

hidrógeno, hidroperóxidos y peroxinitritos). Estos radicales libres son responsables del daño celular que se puede producir indirectamente por deterioro oxidativo en ácidos grasos insaturados y ADN. Los sistemas de defensa del organismo incluyen a determinados enzimas y a los neutralizadores (captadores) de radicales libres. Los últimos son moléculas fácilmente oxidables. Los sistemas neutralizadores de los radicales libres utilizan varios mecanismos como son las vitaminas (E y C), los enzimas (superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, etc.) y otros captadores de radicales no-vitamínicos de la dieta entre los que destacan los polifenoles. La eficacia de este sistema depende de factores relacionados con el genoma, como es el caso de los sistemas enzimáticos de defensa, y de la nutrición para los captadores de radicales vitamínicos o no-vitamínicos.

Los estudios epidemiológicos sugieren que los antioxidantes de la dieta pueden tener un efecto beneficioso en muchas enfermedades relacionadas con el envejecimiento. Arteriosclerosis, cáncer, algunas enfermedades neurodegenerativas e incluso enfermedades respiratorias (5).

La carencia actual de suficientes datos impide una recomendación sistemática del consumo de antioxidantes. Sin embargo, las dietas ricas en antioxidantes con frutas y hortalizas y alimentos derivados sí que parece un hábito alimentario saludable que debería recomendarse (6).

PAPEL EN ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES Y CEREBRO- VASCULARES

Durante los últimos 25-30 años, se han llevado a cabo diferentes estudios epidemiológicos en diferentes países en un intento de evaluar el efecto de los hábitos dietéticos en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares. Estos estudios han examinado la dieta de individuos en la década de los sesenta y han registrado la mortalidad por infarto de miocardio durante los 25 años siguientes. En uno de estos estudios, utilizando técnicas analíticas modernas, se ha evaluado el promedio de la ingesta de flavonoides y otras sustancias fenólicas en 16 grupos que participaban en el conocido como Estudio de los Siete Países. Se encontró que la ingesta de flavonoides estaba inversamente asociada a la mortalidad por infarto de miocardio (7). Además se llevaron a cabo varios estudios prospectivos sobre poblaciones concretas en las que se estudió el efecto de la dieta en las enfermedades coronarias y cerebrovasculares. Cuatro de ellos iban dirigidos a las enfermedades coronarias y se llevaron a cabo con poblaciones de Holanda (8), EE.UU. (9), Reino Unido (10) y Finlandia (11) y uno sobre enfermedades cerebrovasculares en Holanda

(12). En algunos de estos estudios se encontró un fuerte efecto protector de los flavonoides frente a estas enfermedades, pero en otros el efecto fue menos significativo o incluso negativo como en el caso del estudio británico (10). Estas discrepancias pueden ser debidas, entre otros factores, a deficiencias en los métodos de evaluación de la ingesta de flavonoides y otros polifenoles en estos estudios, las variedades de frutas y hortalizas ingeridas y diferencias con las analizadas y efecto de tratamientos de postrecogida y cocinado, bioisponibilidad y metabolismo por bacterias del colon, etc. (3).

La modificación oxidativa de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) se cree que tiene un papel crucial en la aterogénesis, y estudios epidemiológicos han mostrado que el consumo de frutas y hortalizas y el consumo regular y moderado de vino tinto se correlaciona con un menor riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares (13).

En un estudio reciente se ha confirmado que las personas con mayor ingesta de quercetina (un flavanol muy abundante en cebollas, pero también presente en manzanas, té, vino y muchas otras frutas y hortalizas) tienen menor tasa de mortalidad por infarto de miocardio, y la incidencia de enfermedades cerebrovasculares fue menor en aquellas personas con un mayor consumo de kaempferol (abundante en brócoli y en muchas frutas y hortalizas), naringenina y hesperetina (muy abundantes en cítricos) (14).

Otros estudios epidemiológicos han puesto de manifiesto una relación directa entre el consumo de té y las enfermedades cardiovasculares. En estos casos también se ha considerado que los efectos antioxidantes de los flavonoides del té, que incluyen la prevención del daño oxidativo del LDL, están entre los mecanismos potenciales que pueden estar detrás de este efecto protector (15). Otros posibles mecanismos que se han sugerido para estos efectos beneficiosos incluyen la atenuación de los procesos inflamatorios en la aterosclerosis, una reducción de la trombosis, la promoción de una función normal del endotelio, y un bloqueo de la expresión de las moléculas que controlan la adhesión celular. Los flavonoides del chocolate y del té (flavan-3-oles) también tienen un efecto antioxidante *in vitro* e *in vivo* aumentando la capacidad antioxidante del plasma y la reactividad de las plaquetas. Los datos disponibles parecen indicar que 150 mg de estos flavonoides (cantidad presente en una taza de té de 235 mL hervida durante 2 min) son suficientes para producir un rápido efecto antioxidante en el plasma y cambios en la prostaciclina *in vivo* (15).

Sin embargo, las evidencias sobre el papel de los flavonoides en la prevención de enfermedades cardiovasculares es todavía motivo de conflicto. En un estudio reciente se ha estudiado la asociación entre la ingesta de flavonoides del té y la incidencia de infarto de miocardio en la población holandesa. Los

resultados han indicado que la ingesta de flavonoles (quercetina + kaempferol + miricetina) está inversamente asociada con el infarto de miocardio fatal, sólo cuando se comparan los de mayor ingesta con los de menor ingesta. En este estudio se concluye que una mayor ingesta de flavonoides puede contribuir a la prevención primaria de las enfermedades cardíacas isquémicas (16).

PAPEL EN EL CÁNCER

En una revisión realizada por Steinmetz y Potter (1996) (17) sobre datos procedentes de 206 estudios epidemiológicos, se ponía de manifiesto que consumos más elevados de frutas y hortalizas estaban relacionados con una menor incidencia de determinados tipos de cáncer, entre los que se incluían los de estómago, esófago, pulmón, cavidad oral y faringe, endometrio, páncreas y colon. Además, en este estudio también se concluye que un mayor consumo de frutas y hortalizas tendría también efectos beneficiosos sobre otras patologías, como son las enfermedades cardiovasculares, la diabetes, la trombosis cerebral, la obesidad, la diverticulosis y las cataratas. De acuerdo con este estudio, las hortalizas con mayor papel en este efecto protector serían las que se consumen crudas, seguidas por ajos y cebollas, zanahorias, hortalizas verdes, coles, coliflores y brócoli, tomates y fruta en general. Entre los componentes de estos alimentos que podrían contribuir al eventual efecto protector se citan: los polifenoles, ditioionas, isotiocianatos, indol-3-carbinol, compuestos azufrados de ajos y cebollas (alliina y allicina), isoflavonas, vitamina C, limoneno, luteína, carotenos, licopeno, vitamina E, ácido fólico y fibra dietética.

Los mecanismos a través de los que las sustancias fitoquímicas de los alimentos ejercerían su actividad anticarcinógena y preventiva de enfermedades no están aún definitivamente establecidos en la mayoría de los casos. En estudios de laboratorio o con animales experimentación se han puesto de manifiesto efectos y actividades biológicas muy variados, como cabe esperar para un grupo tan amplio y diverso de estructuras químicas. Así, hay sustancias que poseen propiedades antioxidantes y neutralizadoras de radicales libres, otras que influyen sobre los procesos de diferenciación celular, aumentan la actividad de enzimas relacionados con la detoxificación de carcinógenos (enzimas de Fase II), bloquean la formación de nitrosaminas cancerígenas, actúan sobre el metabolismo de los estrógenos, modifican el medio colónico (flora bacteriana, composición de ácidos biliares, pH, volumen fecal), preservan la integridad de las células, ayudan a mantener los mecanismos de reparación del ADN, aumentan la apoptosis (muerte controlada) de las células cancerígenas o disminuyen la proliferación celular.

Las flavonas y las isoflavonas pueden jugar un papel destacado en la prevención del cáncer, ya que se encuentran en numerosos alimentos de origen vegetal que se asocian con tasas de cáncer reducidas. Esta aproximación ha sido especialmente útil en el caso de las isoflavonas, ya que se encuentran en especial abundancia en un número reducido de alimentos, y principalmente en los derivados de la soja. Se han identificado muchos posibles mecanismos de acción para estos flavonoides en la prevención del cáncer, que incluyen la actividad estrogénica/antiestrogénica, antiproliferativa, inducción del bloqueo del ciclo celular de las células cancerosas en una fase determinada y apoptosis, prevención de la oxidación, inducción de los enzimas de detoxificación (enzimas de Fase I y Fase II) regulación del sistema inmune y cambios en la señalización celular (18). Se podría esperar que una combinación de estos mecanismos pueda ser la responsable del carácter preventivo del cáncer que tienen estos compuestos. Hay muchos estudios recientes que indican que las flavonas e isoflavonas contribuyen a la prevención del cáncer, aunque es necesario llevar a cabo investigaciones que clarifiquen la naturaleza del impacto e interacciones de estos constituyentes bioactivos con otros componentes de la dieta (18).

En este sentido, en un trabajo reciente en el que se han seguido las enfermedades crónicas de 10.054 personas en Finlandia, se ha puesto de manifiesto que los hombres con una mayor ingesta de quercetina tenían una menor incidencia de cáncer de pulmón y los que ingerían más miricetina tenían menos incidencia de cáncer de próstata (14).

Muchos flavonoides e isoflavonoides poseen actividad estrogénica o antiestrogénica (19) lo que supone que puedan tener un papel en la prevención de la osteoporosis, mejorando los síntomas de la menopausia y disminuyendo los niveles de colesterol sérico, mediante mecanismos relacionados con esta actividad estrogénica. Muchas de estas sustancias pueden competir con las hormonas endógenas a través de una unión competitiva con los receptores estrogénicos, lo que podría ser de interés en la inhibición del desarrollo de tumores estrógeno-dependientes.

Otros polifenoles actúan inhibiendo la proliferación celular que se encuentra completamente desregulada en los casos de cáncer. Esta inhibición de la proliferación ha sido demostrada *in vitro* en muchas líneas celulares tumorales. Por ejemplo, Kuo (1996) (20) publicó el efecto antiproliferativo de los flavonoides sobre células de carcinoma de colon a través de mecanismos de inducción de la apoptosis. Aunque los efectos antiproliferativos de los polifenoles en general, y flavonoides e isoflavonoides en particular en cultivos celulares parece bien demostrado, existen relativamente pocos datos en relación con la actividad antiproliferativa *in vivo*, y no se conoce prácticamente nada de la relevancia clínica de esta bioactividad (18).

Este efecto antiproliferativo sugiere que los polifenoles pudieran actuar inhibiendo el ciclo celular o induciendo apoptosis en la células tumorales. De hecho, muchos trabajos están demostrando el efecto que tienen los polifenoles sobre el ciclo celular de células tumorales en cultivos *in vitro*. Esto ha sido demostrado en células de varios tipos de leucemia, cáncer de estómago, de pulmón, de colon, de vejiga, y próstata (18).

Los polifenoles también pueden proteger frente al cáncer mediante su inhibición del daño oxidativo del ADN (21), oxidación que parece ser una importante causa de mutaciones que potencialmente podría ser reducida por los antioxidantes de la dieta. Los polifenoles, por su actividad antioxidante, que ha sido ampliamente demostrada *in vitro*, podrían prevenir esta oxidación si alcanzan aquellos tejidos donde estas oxidaciones se pueden producir. De nuevo, relativamente pocos datos han sido publicados sobre su papel *in vivo*.

Otro mecanismo para evitar la carcinogénesis es mediante la activación de los enzimas de detoxificación de carcinógenos, como es el caso de los enzimas de Fase II (22). En otros casos los enzimas conocidos como de Fase I llevan a cabo la transformación de procarcinógenos para dar lugar a carcinógenos. La opinión actual de los científicos sugiere que las condiciones óptimas para la prevención de la activación del carcinógeno conllevaría una inhibición del metabolismo de Fase I que lleva a la activación de carcinógenos a la vez que una activación de los enzimas de Fase II.

PAPEL EN ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS

Estudios de laboratorio sugieren que el estrés oxidativo puede contribuir a la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer. Por tanto, se ha hipotetizado que el riesgo de padecer la enfermedad de Alzheimer podría reducirse por el consumo de antioxidantes que contrarresten el efecto negativo del estrés oxidativo. En este sentido se han llevado a cabo estudios epidemiológicos, como es el caso del conocido como "Estudio de Róterdam", para evaluar el efecto de la dieta en la prevención de enfermedades neurodegenerativas y la demencia senil. En este caso se han seguido a 5.395 individuos durante la década de los 90 y se ha estudiado si existe alguna relación entre la dieta y el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer, especialmente siguiendo el efecto de consumo de antioxidantes como es el caso de las vitaminas C y E el beta-caroteno y los flavonoides. En este estudio, un mayor consumo de vitaminas C y E fue asociado con un menor riesgo de desarrollar la enfermedad de Alzheimer, y esta relación fue inclu-

so más pronunciada en el caso de fumadores, y también se observó en el caso de beta-caroteno y flavonoides (23). Sin embargo en otro estudio epidemiológico llevado a cabo en EE.UU. se ha encontrado que sólo la vitamina E, pero no la C ni el beta-caroteno se pueden asociar con una reducción del riesgo de Alzheimer (24). Es necesario realizar más investigaciones en este sentido para poder demostrar si los antioxidantes de la dieta pueden ejercer un efecto real en la prevención de las enfermedades neurodegenerativas.

BIODISPONIBILIDAD Y METABOLISMO

Los polifenoles que han demostrado un posible papel en la prevención de estas enfermedades en estudios llevados a cabo *in vitro*, sólo podrán ser verdaderamente afectivas si alcanzan los tejidos donde han de ejercer su acción en concentraciones suficientes para tener un efecto biológico. Es por tanto esencial conocer la absorción y el metabolismo de estos polifenoles en el organismo humano mediante estudios de su biodisponibilidad *in vivo*.

La biodisponibilidad, desde el punto de vista de la nutrición, se expresa frecuentemente como la proporción de la dosis ingerida que es excretada en orina comparada con la excretada en heces (25). Sin embargo, los compuestos liposolubles, no serán directamente excretados en orina sino que aparecerán como metabolitos hidrosolubles. Principalmente, en el caso de compuestos liposolubles, parte de estas sustancias pueden almacenarse en los tejidos adiposos, de forma que la ingesta menos la excreta no reflejará la historia real del destino biológico de estos metabolitos. Tanto el contenido plasmático como el urinario de un compuesto determinado puede ser usado para reflejar su absorción en el tracto gastrointestinal. Muchos compuestos son muy metabolizados, y su biodisponibilidad total se ve reflejada en la cantidad del compuesto de partida más la de todos sus metabolitos. Muchos compuestos pueden sufrir una gran modificación en el tracto gastrointestinal antes de la absorción inicial o tras la excreción biliar previa a la reabsorción, posterior metabolismo, posible degradación y para terminar con la excreción. Los flavonoides no son muy solubles ni en solventes orgánicos ni acuosos y se encuentran presentes generalmente en alimentos en combinaciones con azúcares en forma de glicósidos, que son más solubles que las correspondientes agliconas, y que pueden necesitar una hidrólisis enzimática de la porción glicídica mediante glicosidasas bacterianas o humanas antes de la absorción (25).

Las agliconas de estos compuestos pueden ser conjugadas por UDP-glucuronosiltransferasas para formas glucurónidos y por sulfotransferasas para

dar lugar a sulfatos (18). Éstos son mucho más fácilmente transportados en sangre y excretados en bilis u orina que sus correspondientes agliconas. El espectro de productos de conjugación depende de la especie e incluso del género. Estos metabolitos no son necesariamente inertes biológicamente. Queda mucho trabajo por hacer en la determinación de el destino metabólico y la biodisponibilidad de muchas sustancias fenólicas específicas. La solubilidad y destino metabólico de los polifenoles debido a biotransformaciones endógenas y exógenas y la interacción con otros componentes de la dieta determinarán la biodisponibilidad de estas sustancias (18).

Esta biodisponibilidad, en el caso de los flavonoides, puede ser muy diferente dependiendo del tipo de compuesto y de su estructura concreta. En general se podría decir que los flavonoles pueden ser mucho menos biodisponibles que las isoflavonas. Estas sustancias e pueden encontrar en plasma en concentraciones micromolares y los efectos biológicos de estos compuestos se deberían estudiar dentro de este rango de concentraciones para que tengan relevancia nutricional.

Las isoflavonas, flavonoles y flavonas pueden ser rápidamente y principalmente conjugados con ácido glucurónico en la mucosa gastrointestinal. Conjugaciones posteriores pueden llevarse a cabo en el hígado así como sulfataciones. También se han descrito metilaciones e hidroxilaciones en el caso de algunos polifenoles (26).

Las actividades biológicas de estos metabolitos pueden mantener las propias de los compuestos de partida o modificarlas sustancialmente (27).

La actividad biológica de los polifenoles también se puede ver considerablemente afectada por biotransformaciones por microorganismos del intestino grueso tras un proceso de fermentación bacteriana. Estos metabolitos podrían explicar la actividad de muchos constituyentes de la dieta *in vivo*. Las transformaciones microbianas de los polifenoles están sujetas a una considerable variabilidad dependiendo de los individuos, debido a diferencias en la flora microbiana del colon. Estas variaciones también se pueden ver influenciadas por el género.

Los constituyentes de la dieta que acompañan a los polifenoles y la matriz del alimento en que se encuentran también pueden tener un efecto relevante en su biodisponibilidad y metabolismo. Por ejemplo, sería necesario conocer la capacidad de extracción de los polifenoles a partir de la matriz del alimento en las condiciones fisiológicas, su estabilidad y/o transformación química a los pHs fisiológicos y la acción de enzimas digestivos sobre estas sustancias y las estructuras de los tejidos vegetales en los que se encuentran muchas veces inmersos, etc. Esto está pendiente de estudio y recientemente se han desarrollado métodos *in vitro* para estudiar estos efectos,

que ya han sido aplicados al caso de la fresa y la naranja (28).

Poco se conoce sobre las formas bioactivas de los polifenoles *in vivo* y los mecanismos mediante los cuales estas sustancias pueden contribuir en la prevención de enfermedades. Aunque se han llevado a cabo muchos estudios sobre la biodisponibilidad de polifenoles, mediante el estudio de su absorción y formas conjugadas con glucurónido y con sulfato, etc., muy pocos se centran en el estudio de los metabolitos mayoritarios formados *in vivo*, metabolitos que se forman tras la degradación de los constituyentes naturales por la acción de los enzimas de bacterias presentes en el colon y su posterior absorción. En un estudio reciente se ha investigado la relación entre los biomarcadores de biotransformación de los polifenoles de la dieta por las bacterias del colon y los polifenoles conjugados absorbidos. Los resultados disponibles muestran que la mayoría de los compuestos presentes *in vivo* derivan de productos de degradación por las bacterias y su posterior metabolismo en el hígado (25). Estos incluyen los glucurónidos de 3-hidroxifenilacético, homovanílico, vanílico, isoferúlico, 3-(3-metoxi-4-hidroxifenil)propiónico, y 3-hidroxihippúrico como es el caso de la quercetina (Fig. 3). Por el contrario, los conjugados de polifenoles naturales, como es el caso de glucurónidos de quercetina, naringenina, y ácidos ferúlico, cafeico y sináptico se detectan en niveles muy inferiores. Estos autores sugieren que estos productos de rotura deberían tener un papel fisiológicamente relevante como constituyentes bioactivos *in vivo*. Los estudios más recientes van encaminados a estudiar el papel biológico de los productos del metabolismo de los polifenoles. Un ejemplo muy ilustrativo de lo que le sucede a los polifenoles *in vivo* es el caso de

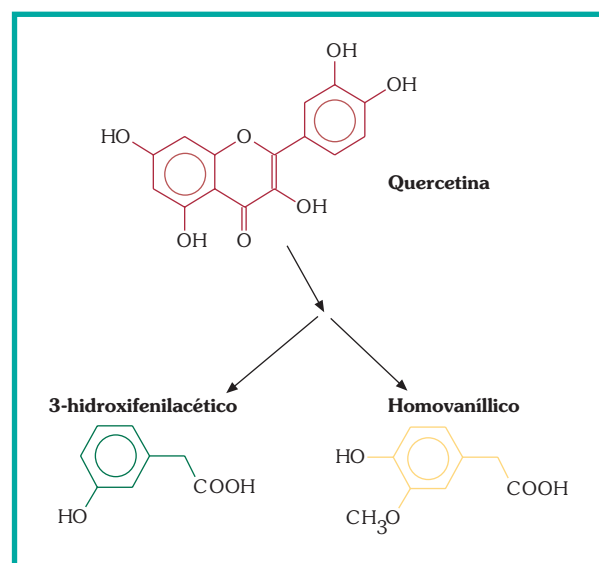


Fig. 3. Metabolismo del flavonol quercetina por la flora del colon.

las isoflavonas, que como la daidzeína son transformadas *in vivo* por las bacterias del colon en el metabolito equol, que posee una actividad estrogénica muy superior a la del metabolito de partida (Fig. 4) (29). Algo parecido se produce en el caso de los lignanos que se encuentran presentes en muchas fibras dietéticas, que son transformados por la flora colónica en metabolitos con actividad estrogénica, como es el caso de la enterolactona y el enterodiol (29) (Fig. 5).

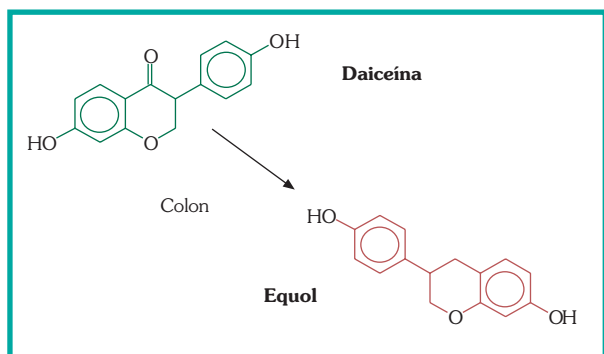


Fig. 4. Metabolismo de las isoflavonas por la flora del colon.

FACTORES QUE AFECTAN AL CONTENIDO CUALI- Y CUANTITATIVO DE POLIFENOLES DE LOS ALIMENTOS

Dada la importancia que los polifenoles pueden tener en la prevención de enfermedades resulta esencial definir los factores que influyen sobre su distribución y contenido en los productos vegetales y los alimentos derivados de ellos. Por un lado, existen factores intrínsecos al propio vegetal (de origen genético), que llevan a que la composición en estas sustancias sea diferente no sólo entre distintos géneros o especies, sino incluso también entre variedades de un mismo producto. Como ejemplo, en el caso de las hortalizas, cabe citar el de la lechuga, en cuyas variedades *romana*, *iceberg* y *baby* existe un pobre contenido en sustancias fenólicas antioxidantes (flavonoles y derivados de ácido cafeico), al contrario de lo que ocurre en variedades como *hoja de roble* y, sobre todo, *Lollo rosso* (30). En el caso de las frutas se puede mencionar a las manzanas, cuyo contenido en sustancias fenólicas (antocianos, flavonoles y procianidinas) varía considerablemente dependiendo de la variedad. Esta diferencia puede incrementarse aún más en función de los contenidos y

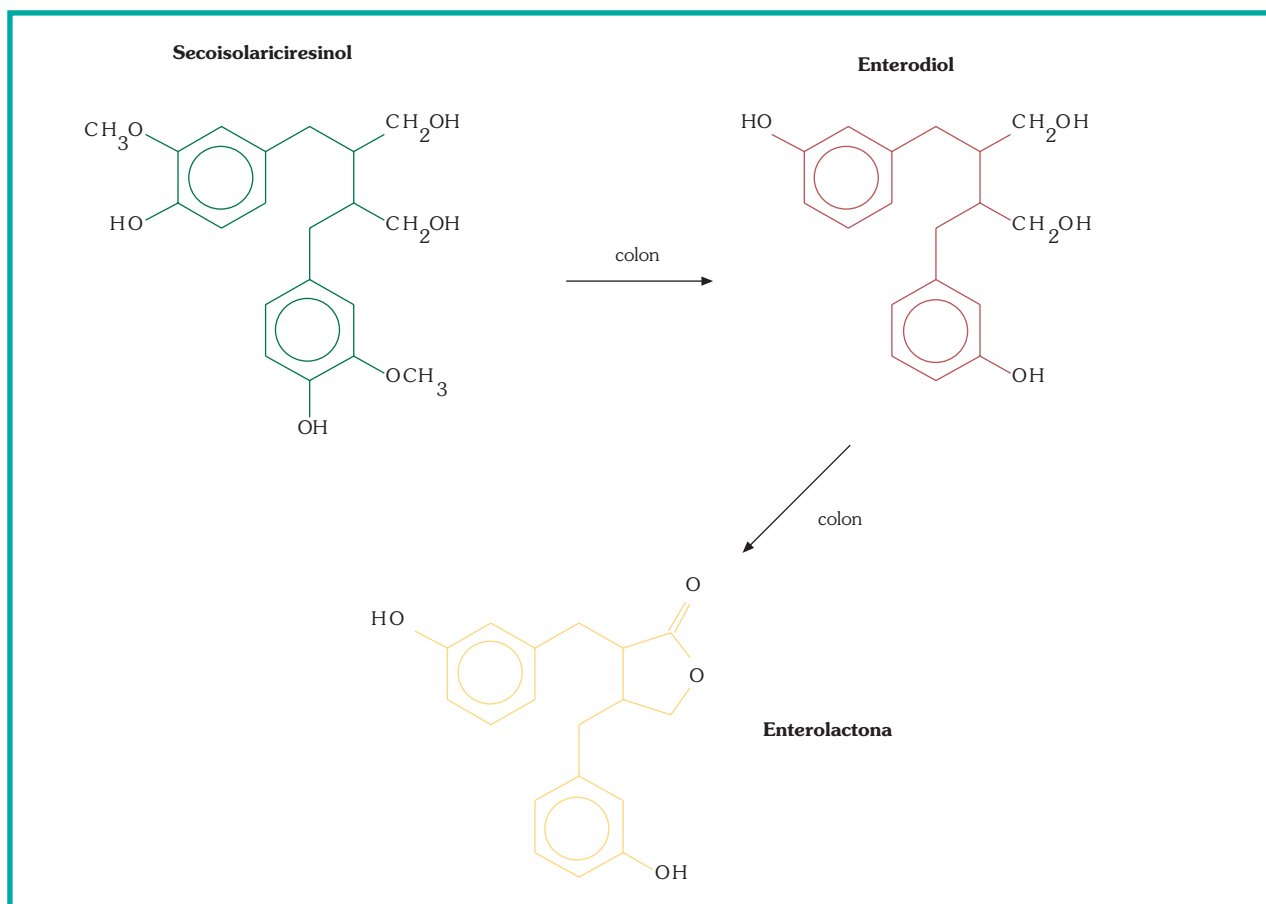


Fig. 5. Transformación de lignanos mediante la flora intestinal para producir metabolitos estrogénicos.

actividad de las enzimas oxidativas presentes en distintas variedades, que pueden actuar sobre las sustancias fenólicas y, en muchos casos, son responsables de la pérdida de calidad organoléptica y nutricional de alimentos derivados (3,4).

Esta variabilidad relacionada con la información genética abre grandes expectativas a la posibilidad de obtener variedades enriquecidas en algunos de estos constituyentes de interés para la protección de la salud, ya sea mediante técnicas de selección y mejora tradicionales o de ingeniería genética, que ya se están aplicando. Un ejemplo de estos avances es la obtención del *golden rice* (arroz dorado), capaz de biosintetizar y acumular en el grano cantidades importantes de β -caroteno (provitamina A), lo que le confiere un característico color amarillo y puede proporcionar grandes beneficios nutricionales a aquellas poblaciones que tienen una dieta basada en el arroz. Otro ejemplo es la obtención de variedades de tomate que producen mayor cantidad de flavonoles antioxidantes, que, además, se acumulan en la parte carnosa del fruto, a diferencia de lo que ocurre en las variedades tradicionales que sólo contienen pequeñas cantidades de flavonoles en la piel (31). A la hora de introducir cambios que afectan a la composición química del vegetal hay, sin embargo, que tener en cuenta que un aumento excesivo en el contenido de alguna de estas sustancias no siempre es deseable, ya que, al tratarse de sustancias bioactivas, podría llevar a producir efectos tóxicos. De sobra son conocidos diferentes efectos tóxicos de determinadas sustancias fitoquímicas (32), como los que puede plantear el consumo excesivo de flavonoides (33).

Por otra parte, la composición en polifenoles va a estar influida por factores extrínsecos al vegetal, ligados a sus circunstancias de cultivo (factores agroambientales) y a las condiciones de conservación tras la recolección. Así, se ha demostrado que la presencia o ausencia de determinados nutrientes en el suelo y el exceso o déficit de riego pueden afectar a la composición fitoquímica de las frutas y hortalizas, tanto cualitativa como cuantitativamente. Se sabe que el calcio, el boro y el contenido en sustancias nitrogenadas del suelo tienen un efecto decisivo sobre el contenido en sustancias fenólicas antioxidantes e influir sobre su degradación por enzimas oxidativas (polifenoloxidasas) durante su posterior manipulación, conservación o procesado (4). El contenido en compuestos azufrados del suelo influye considerablemente sobre el contenido en glucosinolatos de las *Brassicaceas* y el de compuestos azufrados de los ajos y cebollas. El grado de madurez de las diferentes frutas y hortalizas también influye de forma relevante sobre la composición fitoquímica, sin que exista un patrón de comportamiento general para todos los productos. Igualmente, el grado de iluminación e irradiación de las plantas y la temperatura de cultivo ejercen también una influencia importante sobre el contenido en sustancias fitoquímicas. Por ejemplo, se ha visto que la concentración de antocianos en las manzanas, granadas y la

mayoría de las frutas pigmentadas con estas sustancias fenólicas, es notablemente superior en aquellos frutos que han crecido en zonas con temperaturas nocturnas más bajas; igualmente una mayor tasa de insolación favorece la acumulación de antocianos en el producto. El grado de irradiación con luz UV puede también afectar al contenido de resveratrol en las uvas y de cumarinas en los frutos cítricos (34).

Además de estos factores de tipo agronómico, se pueden producir cambios considerables en estos constituyentes durante la conservación tras la recolección. La conservación se lleva a cabo generalmente a bajas temperaturas, a las cuales suelen inducirse las enzimas responsables de la biosíntesis de algunas sustancias fitoquímicas, sobre todo las de naturaleza fenólica (3). Por esta razón, durante la conservación de determinadas frutas y hortalizas, se puede producir en algunos casos un aumento en los contenidos de determinados constituyentes de interés para la salud. A veces, la conservación se lleva a cabo en condiciones específicas para disminuir la respiración y consecuentemente la actividad fisiológica del vegetal, lo que permite retrasar su maduración y su deterioro. Esto se consigue mediante el empleo de atmósferas controladas y la técnica MAP (*modified atmosphere packaging*), consistente en disminuir el contenido en oxígeno y aumentar el de anhídrido carbónico en el ambiente que rodea a los productos. Estos tratamientos, que ayudan a prolongar la vida comercial de las frutas y hortalizas, también poseen marcados efectos sobre el contenido en sustancias fitoquímicas, que en algunos casos disminuyen y en otros casos aumentan, dependiendo del tipo de producto y de las condiciones empleadas. Es conocido el efecto decolorador de antocianos con la consiguiente pérdida de pigmentación que se produce en la fresa cuando se almacena en presencia de concentraciones elevadas de CO_2 (3). En el caso de las lechugas mínimamente procesadas, el uso de atmósferas modificadas disminuye la biosíntesis de derivados del ácido cafeico, evitando, de este modo, el desarrollo del pardeamiento inducido por el corte que se produce cuando se almacenan ensaladas cortadas. También ejercen efectos interesantes los tratamientos post-cosecha con ozono o con irradiaciones con luz UV o radiación gamma, que en la mayoría de los casos conllevan un incremento en la biosíntesis de sustancias fitoquímicas de interés en la salud. La irradiación con luz UV, por ejemplo, induce la acumulación del anticancerígeno resveratrol en la uva de mesa o para vinificación, lo que mejoraría sus propiedades protectoras de la salud (34).

RECOMENDACIONES SENCILLAS PARA EL CONSUMIDOR

Todos estos estudios que hemos tratado de resumir aquí han llevado a determinadas administracio-

nes, como la de Estados Unidos, a desarrollar campañas para incrementar el consumo de frutas y hortalizas y alimentos derivados. De hecho se le ha dado una gran publicidad a la conocida pirámide de la alimentación tan difundida por la USDA. Por otra parte han surgido asociaciones para promover el consumo de frutas y hortalizas debido a sus propiedades saludables. Éste es el caso del Club “5 al día” recientemente creado en España, pero que tiene sus análogos en la mayoría de los países desarrollados.

Las investigaciones científicas parecen demostrar que el consumo de 400-600 g al día entre frutas y hortalizas se ha asociado con una menor incidencia de muchas formas de cáncer. Estos alimentos contienen sustancias fitoquímicas (entre ellas los polifenoles) que pueden modular la expresión génica e inhibir la carcinogénesis mediante muchos mecanismos. Muchas sustancias fitoquímicas son coloreadas, por lo que se ha propuesto una forma fácil de comunicar al consumidor dónde los podemos encontrar. Por ejemplo el color rojo del tomate se debe al licopeno (también se encuentra en el pomelo rojo), un pigmento que se acumula en la glándula prostática donde puede estar implicado en mantener su salud. Las hortalizas amarillo-verdosas, como es el caso de las hortalizas de hoja, contienen luteína que se localiza en la retina donde se produce la degeneración macular senil. Los alimentos rojo-púrpura contienen antocianinas, que son antioxidantes potentes presentes en manzanas rojas, uvas, bayas y vino tinto. Los alimentos de color naranja, como las zanahorias, mangos, albaricoques y calabazas, contienen beta-caroteno. Los alimentos amarillo-anaranjados como las naranjas, mandarinas y limones,

contienen flavanonas. Los alimentos verdes, como brócoli y coles de Bruselas, contienen glucosinolatos. Los alimentos blanco-verdoso, como es el caso de los miembros de las Alliaceas, contienen compuestos azufrados. Aunque ésta es una aproximación muy simplista, se podría recomendar a los consumidores que ingirieran una ración de cada uno de los grupos arriba mencionados cada día. Este código de color supone una gran simplificación, pero es también un sistema importante para ayudar a los consumidores a encontrar fácilmente frutas y hortalizas en alimentos cuando están de viaje, o comen en restaurantes o en el trabajo. En el hogar se hacen necesarios sistemas simples y rápidos de preparación de estos alimentos para poder influir en hábitos alimentarios saludables (35).

Sin embargo esta simplificación puede dar lugar a grandes diferencias en la ingesta de polifenoles dependiendo de las variedades de fruta y hortaliza seleccionadas y los hábitos culinarios y de conservación del alimento que tenga el consumidor. Así en la tabla I recogemos las diferencias en la ingesta de polifenoles cuando elegimos cinco raciones de frutas y hortalizas (melocotón, naranja, espinaca, lechuga y uva), que completarían la recomendación de “5 al día”, dependiendo de dichos hábitos anteriormente descritos. En el caso del melocotón, si seleccionamos una variedad rica en polifenoles como la “*Snow king*” y la consumimos sin pelar ingerimos diez veces más polifenoles que cuando seleccionamos una variedad menos rica en estas sustancias como es la *Flavor crest* y además la pelamos (37). En el caso de las uvas, si consumimos una ración de uva de la variedad *Napoleon* sin pelar y no eliminamos las semillas es-

TABLA I
DIFERENCIAS EN LA INGESTA DE POLIFENOLES CUANDO SE CONSUMEN 5 RACIONES DE FRUTAS Y HORTALIZAS DEPENDIENDO DE LOS HÁBITOS ALIMENTARIOS DEL CONSUMIDOR

Melocotón (una pieza)	Variedad <i>Snow king</i> sin pelar 110 mg de polifenoles	Variedad <i>Flavor Crest</i> pelado 14 mg de polifenoles
Uva (100 g)	Variedad <i>Napoleón</i> sin pelar y con pepitas 50 mg de polifenoles	Variedad <i>Napoleón</i> pelada y sin pepitas 5 mg de polifenoles
Naranja (una pieza)	Variedad <i>Navel</i> pelada dejando parte de albedo 400 mg de flavanonas	Variedad <i>Navel</i> pelada eliminando totalmente el albedo 100 mg de flavanonas
Lechuga (100 g)	Variedad <i>Lollo rosso</i> 300 mg de polifenoles	Variedad <i>Iceberg</i> (blanca). 10 mg de polifenoles
Espinaca (100 g)	Cocinada al microondas 120 mg de flavonoles	Hervida y sin aguas de cocción 50 mg de flavonoles
<i>5 raciones al día</i>	<i>Total: 960 mg de polifenoles</i>	<i>Total: 179 mg de polifenoles</i>

Los valores han sido obtenidos de publicaciones previas (29,34,36-38).

tamos consumiendo diez veces más polifenoles que cuando estas uvas son peladas y las semillas descartadas (34). En el caso de la naranja tiene una gran relevancia cómo de cuidadosos somos a la hora de eliminar el albedo, pues es ésta la parte más rica en flavanonas del fruto. Una eliminación exhaustiva del albedo hace que sólo ingeramos una cuarta parte de las flavanonas que se ingerirían si este pelado dejara parte del albedo (36). En el caso de la lechuga, una ración de ensalada sobre la base de la variedad *Lollo rosso* (o también *Hoja de roble*) proporcionará 30 veces más polifenoles que la misma ensalada elaborada con la variedad *Iceberg* y seleccionado los tejidos más blancos (29). Por último en el caso de la espinaca, si las preparamos cocinadas al microondas estamos ingiriendo más del doble de los flavonoles que ingeriríamos si estas espinacas son hervidas y las consumimos tras separar las aguas de cocción (38). En el mejor de los casos estaríamos ingiriendo casi un gramo de polifenoles con estas 5 raciones de frutas y hortalizas, cantidad que se quedaría en poco más de 150 mg si seleccionamos otras variedades y llevamos a cabo hábitos alimentarios que eliminan estas sustancias (Tabla I). Estos datos indican que aún siguiendo las recomendaciones para consumir una mayor cantidad de frutas y hortalizas, los hábitos alimentarios pueden afectar considerablemente al consumo de estos metabolitos antioxidantes.

CONCLUSIÓN

Los alimentos de origen vegetal proporcionan metabolitos antioxidantes con estructura química

muy variada que los englobamos dentro del grupo de los polifenoles. Estas sustancias pueden tener un papel relevante en la prevención de enfermedades cardiovasculares, cáncer y enfermedades neurodegenerativas como se desprende de estudios epidemiológicos y experimentaciones *in vitro* y en animales de experimentación. Sin embargo, son relativamente escasos los estudios clínicos que apoyen esta actividad. Por otra parte, los polifenoles presentes en los alimentos son transformados en el organismo en metabolitos que en muchos casos poco tienen que ver con el compuesto de partida, sobre todo en aquellos procesos de metabolismo bacteriano que se llevan a cabo en el colon. Esta transformación metabólica afecta a la mayoría de los polifenoles de los alimentos que no son absorbidos en el intestino delgado y que llegan al intestino grueso donde son degradados por la flora colónica, y sus metabolitos son entonces absorbidos a ese nivel. Es por tanto esencial estudiar la actividad biológica de estos metabolitos que, como en el caso del equol o de los metabolitos de los lignanos, son los constituyentes bioactivos que alcanzan concentraciones fisiológicamente relevantes en los tejidos en los que deben ejercer su acción.

Es igualmente importante estudiar las interacciones entre constituyentes de los alimentos durante los procesos de elaboración y durante su tránsito por el tracto gastrointestinal, y es necesario identificar las diferencias cuali- y cuantitativas en estos constituyentes antioxidantes en diferentes variedades vegetales, el efecto del procesado y la elaboración de los alimentos y la incidencia que los hábitos alimentarios y culinarios pueden tener en la biodisponibilidad y bioactividad de estos constituyentes ●

BIBLIOGRAFÍA

1. Doll R. An overview of the epidemiological evidence linking diet and cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 49: 119-31.
2. Dragsted LO, Strube M, Larsen JC. Cancer-protective factors in fruits and vegetables: biochemical and biological background. *Pharmacol Toxicol* 1993; 72: 116-35.
3. Tomás-Barberán FA, Ferreres F, Gil MI. Antioxidant phenolic metabolites from fruit and vegetables and changes during postharvest storage and processing. En: Atta-ur-Rahman ed. *Studies in Natural products Chemistry*. Amsterdam: Elsevier 2000; 23: 739-95.
4. Tomás-Barberán FA, Espín JC. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *J Sci Food Agric* 2001; 81: 853-76.
5. Shaheen SO, Sterne JA, Thomson RL, Songhurst CE, Mergetts BM, Burney PG. Dietary antioxidants and asthma in adults: population-based case-control study. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 164: 1823-18.
6. Bonnefoy M, Draï J, Kostka T. Antioxidants to slow aging, facts and perspectives. *Presse Med* 2002; 31: 1174-84.
7. Hertog MGL, Kromhout D, Aravanis C, Blackburn H, Buzina R. Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the Seven Countries Study. *Arch Intern Med* 1995; 155: 381-6.
8. Hertog MGL, Feskens EJM, Hollman PCH, Katan MB, Kromhout D. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen elderly study. *The Lancet* 1993; 342: 1007-11.
9. Rimm EB, Katan MB, Ascherio A, Stampfer MJ, Willet WC. Relation between intake of flavonoids and risk of coronary heart disease in male health professionals. *Ann Intern Med* 1996; 125: 384-9.
10. Hertog MGL, Sweetman PM, Fehily AM, Elwood PC, Kromhout D. Antioxidant flavonols and ischaemic heart disease in a Welsh population of men. *The Caerphilly study*. *Am J Clin Nutr* 1997; 65: 1489-94.
11. Knekt P, Järvinen R, Reunanen A, Maatela J. Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: A cohort study. *Brit Med J* 1996; 312: 478-81.
12. Keli S, Hertog M, Feskens E, Kromhout D. Dietary flavonoids, antioxidant vitamins, an incidence of stroke: the Zutphen study. *Arch Int Med* 1996; 156: 637-42.

13. Renaud S, De Lorgeril M. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary Herat disease. *The Lancet* 1992; 339: 1523-5.
14. Knekt P, Kumpulainen J, Jarvinen R, Rissanen H, Heliovaara M, Reunanen A, et al. Flavonoid intake and risk of chronic diseases. *Am J Clin Nutr* 2002; 76: 560-8.
15. Kris-Etherton PM, Keen CL. Evidence that the antioxidant flavonoids in tea and cocoa are beneficial for cardiovascular health. *Curr Opin Lipidol* 2002; 13: 41-9.
16. Geleijnse JM, Launer LJ, Van-der Kuip DAM, Hofman A, Witteman JCM. Inverse association of tea and flavonoid intakes with incident myocardial infarction: the Rotterdam study. *Am J Clin Nutr* 2002; 75: 880-6.
17. Steinmetz KA, Potter JD. Vegetables, fruit, and cancer prevention: A review. *J Am Diet Assoc* 1996; 96: 1027-39.
18. Birt DF, Hendrich S, Wang W. Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavonoids. *Pharmacol Ther* 2001; 90: 157-77.
19. Miksicek RJ. Estrogenic flavonoids: structural requirements for biological activity. *Proc- Soc Exp Biol Med* 1995; 201: 44-50.
20. Kuo SM. Antiproliferative potency of structurally different dietary flavonoids on human colon cancer cells. *Cancer Lett* 1996; 110: 41-8.
21. Omenn GS. GAT accounts for the association of vegetables and fruits with lower incidence of cancers and coronary heart diseases. *Ann Epidemiol* 1995; 5: 333-5.
22. Talalay P, Fahey JW, Holtzclaw WD, Prestera T, Zhang Y. Chemoprotection against cancer by phase 2 enzyme induction. *Toxicol Lett* 1995; 82-83: 173-9.
23. Engelhart MJ, Geerlings MI, Ruitenber A, van-Swieten JC, Hofman A, Witteman JCM, et al. Dietary intake of antioxidants and risk of Alzheimer disease. *J Amer Med Assoc* 2002; 287: 3223-9.
24. Morris MC, Evans DA, Bilenias JL, Tangney CC, Bennet DA, Aggarwal N, et al. Dietary intake of antioxidant nutrients and the risk of incident Alzheimer disease in a biracial community study. *J Amer Med Assoc* 2002; 287: 3230-7.
25. Rechner AR, Kuhnle G, Bremmer P, Hubbard GP, Moore KP, Rice-Evans CA. The metabolic fate of dietary polyphenols in humans. *Free Rad Biol Med* 2002; 33: 220-35.
26. Peterson TG, Ji GP, Kirk M, Coward L, Falany CN, Barnes S. Metabolism of the isoflavones genistein and biochanin A in human breast cancer cell lines. *Am J Clin Nutr* 1998; 68: 1505S-11S.
27. Zhang Y, Song TT, Cunnick JE, Murphy PA, Hendrich S. Daidzein and genistein glucuronides in vitro are weakly estrogenic and activate human natural killer cells in nutritionally relevant concentrations. *J Nutr* 1999; 129: 399-405.
28. Gil-Izquierdo A, Zafrilla P, Tomás-Barberán FA. An in vitro method to simulate phenolic compound release from the food matrix in the gastrointestinal tract. *Eur Food Res Technol* 2002; 214: 155-9.
29. Cassidy A, Hanley B, Lamuela-Reventos RM. Isoflavones, lignans and stilbenes – origins, metabolism and potential importance to human health. *J Sci Food Agric* 2000; 80: 1044-62.
30. Ferreres F, Gil MI, Castañer M, Tomás-Barberán FA. Phenolic metabolites in red pigmented lettuce (*Lactuca sativa*). Changes with minimal processing and cold storage. *J Agric Food Chem* 1997; 45: 4249-54.
31. De Vos R. Increased antioxidant activity of high flavonol tomatoes. En: *Nutritional Enhancement of Plant Foods in Europe (NEODIET) Meeting*, Murcia, Febrero 1999.
32. D'Mello JPF. Toxic compounds from fruit and vegetables. En: Tomás-Barberán FA, Robins RJ. Eds. *Phytochemistry of Fruit and Vegetables*. Oxford: Clarendon Press, 1997. p. 331-51.
33. Skibola CF, Smith MT. Potential health impacts of excessive flavonoid intake. *Free Radic Biol Med* 2000; 29: 375-83.
34. Cantos E, Espín JC, Tomás-Barberán FA. Postharvest induction modeling method using UV irradiation pulses for obtaining resveratrol-enriched table grapes: A new 'functional' fruit. *J Agric Food Chem* 2001; 49: 5052-8.
35. Heber D, Bowerman S. Applying science to changing dietary patterns. *J Nutr* 2001; 131: 3078S-81S.
36. Tomás-Barberán FA, Clifford MN. Flavanones, chalcones and dihydrochalcones – nature, occurrence and dietary burden. *J Sci Food Agric* 2000; 80: 1073-80.
37. Tomás-Barberán FA, Gil MI, Cremin P, Waterhouse AL, Hess-Pierce B, Kader AA. HPLC-DAD-ESIMS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches and plums. *J Agric Food Chem* 2001; 49: 4748-60.
38. Gil MI, Ferreres F, Tomás-Barberán FA. Effect of postharvest storage and processing on the antioxidant constituents (Flavonoids and vitamin C) of fresh-cut spinach. *J Agric Food Chem* 1999; 47: 2213-7.