

FOLATOS: VITAMINA EMERGENTE EN LA ALIMENTACIÓN Y LA SALUD.

Ros Berruezo G.¹, Olivares Martínez A. B.², Bernal Cava M. J.², Martínez Graciá C.² y Periago Gastón, M.J.².

Introducción

Folato es el nombre genérico para el ácido fólico, ácido pteroilmonoglutámico o vitamina B6, y compuestos relacionados que exhiben una actividad biológica similar al ácido fólico (Figura 1). «Folato» agrupa a un número de compuestos heterocíclicos basados en un esqueleto de 4-(pteridina-6-metil) ácido amino benzoico conjugado con uno o más, generalmente 5-8 residuos de ácido L-glutámico, que comparten una función metabólica similar. Estos ácidos mono o poliglutámicos son nombrados en función del número de glutamil residuos (n) según la fórmula $PteGlu_n$ (Blakley 1988; Combs 1992). Característica esencial de la estructura química de los folatos incluye derivados pteridina, grado variable de hidrogenación del anillo de pteridina, uniones de unidades de un carbono a las posiciones N5 y/o N10 así como uno o más (hasta 12) residuos glutamil folatos unidos a través de uniones g-peptido. Se conocen tres estados de reducción del anillo de pirazina y seis diferentes sustituyentes de un carbono de distintos estados de oxidación en los átomos N5 y/o N10. El compuesto reducido ácido 5,6,7,8-tetrahidropteroilglutámico es llamado tetrahidrofolato siguiendo las recomendaciones de la IUPAC y abreviado como H4folato (Blakley, 1988). El ácido tetrahidrofólico puede ser sustituido en la posición N5 dando lugar a 5-metil, si el sustituyente es 5-CH₃-, 5-formil si se trata de 5-HCO- y derivados 5-formininos 5-NH=CH-. En la posición N10 se obtienen los derivados 10-formil y como compuestos puente se forman los compuestos derivados 5,10 metilen si la molécula es -CH₂- o 5, 10 metenil si es el -CH⁺-.

El ácido fólico no está presente en muestras biológicas pero es la forma usada en productos farmacéuticos y alimentos fortificados (Eitenmiller y Landen, 1995). Se ha estimado que alrededor del 80% de los folatos naturales existen como formas poliglutámicas. El papel biológico de los poliglutamatos todavía no está claro, sin embargo los monoglutamatos son los que tienen capacidad para atravesar las membranas y también son las formas de transporte (Combs, 1992; Gregory, 1996).

Como propiedades esenciales de los folatos, se puede destacar su limitada solubilidad en agua y baja solubilidad en solventes orgánicos como características de

¹ Catedra'tico y Académico Numerario de la Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental.

² Departamento de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia.

las pterinas. Además las formas reducidas son muy susceptibles a la oxidación, mientras que todas las formas en general, son sensibles a la luz (Blakley, 1969) así como a las variaciones de pH.

Absorción y Funciones

Los poliglutamatos presentes en los alimentos necesitan ser hidrolizados hasta monoglutamatos para ser absorbidos a nivel intestinal. Esta transformación está catalizada por la enzima g-glutamil hidrolasa localizada en el borde apical de la mucosa de yeyuno (Chandler y col., 1986). La forma monoglutámica predominante en sangre es el 5-metil tetrahidrofolato (5-metil- H_4 PteGlu). Una vez los pteroilmonoglutamatos están en sangre, se dirigen a hígado en cuya circulación portal son de nuevo conformados en poliglutamatos, los cuales pueden ser reenviados a sangre o a bilis. El hígado y las células rojas de la sangre son los principales tejidos de almacenamiento para folatos. La excreción se realiza principalmente vía renal, a través de la orina (Gregory, 1995).

El papel de los folatos en el metabolismo es, con raras excepciones, el transporte de unidades un-carbono. De esta manera van a intervenir en reacciones tales como (Konings, 2001; Gregory, 1997), la síntesis de ADN donde la función de coenzima folato es en la síntesis de timidilato y purinas; transferencia de unidades un-carbono mediada por folatos procedentes de serina y conversión de homocisteína hasta metionina, donde la vitamina B12 actúa como coenzima y el 5-metiltetrahidrofolato lo hace como sustrato.

Biodisponibilidad

No obstante, se ha comprobado que los folatos presentes de forma natural en los alimentos son menos absorbidos en el organismo que el ácido fólico sintético. Sauberlich y col., en 1987 demostraron una biodisponibilidad de folatos procedentes de los alimentos de aproximadamente 50%. La biodisponibilidad de formas monoglutámicas puede variar entre 70 y 120% en relación a la del ácido fólico (100%). Surge así la necesidad de crear una unidad capaz de expresar la cantidad de folatos de un alimento en función del contenido de folatos de ese alimento, de su origen y de las formas químicas que presente. A esta unidad se le denomina Equivalente Dietético de Folato (EDF en inglés DEF); está basada en el hecho de que cuando el ácido fólico sintético es consumido como suplemento sin alimento, tiene una biodisponibilidad cercana al 100% (Gregory, 1997), sin embargo cuando es consumido con alimento como ocurre siempre en caso de productos fortificados, su absorción es reducida en un pequeño porcentaje, y se estima que la biodisponibilidad es aproximadamente del 85% (Institute of Medicine, 1998; Cuskelly y col., 1996; Pfeiffer y col., 1997). Así, los DFE pueden expresarse de distintas formas dependiendo del tipo de

conversión necesaria (West and Bailey, 2000), de tal forma que 1 mg de DFE será equivalente a 1.0 mg de folato del alimento, a 0.6 mg de ácido fólico añadido a los alimentos y a 0.5 mg tomados sin alimento; 1 mg de ácido fólico tomado como fortificante será similar a 1.7 mg DFE y, finalmente, 1 mg de ácido fólico tomado como suplemento o ayuno corresponderá a 2.0 mg DFE.

Estos conocimientos son necesarios e importantes porque los folatos son sintetizados solamente por las bacterias y las plantas, por lo que el hombre requiere de la dieta para cubrir sus necesidades diarias de la vitamina. Así, debido al importante papel que desempeña en el metabolismo, existen numerosas enfermedades relacionadas con el ácido fólico, que a su vez están determinadas por déficit de folatos.

Fuentes alimentarias e ingesta diaria

Es esencial poseer un correcto status de folatos, y para alcanzar unos niveles adecuados en plasma se debe recurrir a niveles adecuados de ingesta. Para ello, es necesario conocer la cantidad de folatos que contienen los alimentos, con el objetivo de adecuar la dieta a los niveles que de la vitamina se precisan. Actualmente, los valores de ingesta están basados en tablas de composición de alimentos cuyos datos sobre folatos pueden ser cuestionables a menudo (Cuskelly y col., 1996).

Los folatos están presentes en una gran variedad de alimentos, especialmente en las verduras de hoja ancha (espinacas, brócoli, coles de bruselas), hígado, frutas (naranja), cereales, legumbres, levaduras y frutos secos (Tabla 1) (12). En particular las hojas de las verduras, y sobre todo las de hoja ancha, son una fuente excelente de ácido fólico. Tal es la importancia del contenido de estos alimentos que de ahí proviene el nombre de dicho compuesto, del latín folium, hoja.

En cuanto a los requerimientos de ingesta establecidos para folatos, se debe apuntar que varían en función del estado fisiológico del individuo. De tal forma que en general se puede afirmar que las recomendaciones oscilan entre 170 y 200 $\mu\text{g}/100\text{g}$ para mujeres y hombres respectivamente, aumentando en estados fisiológicos tales como lactación o durante el embarazo. No obstante, los requerimientos varían dependiendo de los valores que se hayan tomado como referencia. En la Tabla 2 se muestran los valores más relevantes.

Como puede observarse, la estimación de ingesta de folatos depende de los valores que se tomen como referencia, y de la dieta de la que se parta. Esto es, las fuentes dietéticas principales de folatos varían con el país, por ejemplo en Estados Unidos se trata del zumo de naranja, los cereales para el desayuno y los complejos multivitamínicos (Tucker y col, 1996), mientras que en países europeos son las verduras y hortalizas, el pan y las patatas (de Bree y col., 1997). No obstante, debido a la importancia de su papel metabólico

y por tanto a las consecuencias de su deficiencia, se ha comenzado a emplear una política de fortificación regulada de alimentos tales como cereales de desayuno, pan, pasta y otros productos de cereales, a niveles de 140 µg/100g. Este enriquecimiento de determinados alimentos comenzó en Estados Unidos en 1998 y se ha ido adoptando en países como Reino Unido y Australia debido a su efecto beneficioso sobre la salud y al incremento logrado en los niveles de ingesta de ácido fólico además de los beneficios económicos que se han podido probar en Estados Unidos (Crane y col., 1995; Romano y col., 1995).

Tabla 1.- Contenido promedio en vitamina B9 de distintos alimentos expresada en µg por 100 gramos de producto (Le Grusse y Watier, 1993).

ALIMENTOS	CONTENIDO
Levadura seca	1.800-5.500
Hígado	30-380
Espinacas, Brócoli, Coles de Bruselas	170-320
Otras legumbres verdes	50-100
Lentejas	35-130
Pan entero	36-60
Queso, Huevos	3-60
Frutas, Zanahorias, Calabacín, Espárragos	10-30
Carne y pollo	0.1-25

Tabla 2.- Recomendaciones de ingesta para el ácido fólico (µg/día).

	Reino Unido, 1991	Países Escandinavos* 1996	Estados Unidos*, 1998	FAO/WHO, 2002. * Niveles seguros de ingesta	
	Ingesta recomendada de nutrientes (RNI)		Recommended daily allowances (RDA)	Requerimientos medios estimados (EAR)	Ingesta recomendada de nutrientes (RNI)
Hombre	200	300	400	320	400
Mujer	200	300	400	320	400
Gestación	300	400	600	520	600

*Equivalentes de Folato Dietético (DFE)

- 1 mg de DFE = 1.0 mg de folato del alimento = 0.6 mg de ácido fólico añadido a los alimentos = 0.5mg tomados sin alimento.
- 1 mg de ácido fólico tomado como fortificante = 1.7 mg DFE
- 1 mg de ácido fólico tomado como suplemento o ayuno = 2.0 mg DFE.

Folatos y Salud

El ácido fólico se considera esencial para muchos aspectos de la salud humana. En los últimos años han aumentado los estudios relacionados con esta vitamina, debido a su relación con el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares (Boushy y col., 1995), determinados tipos de cáncer (Giovannucci y col., 1993), y síndromes del sistema nervioso al nacimiento (Czeizel y col., 1992), ya que juegan un importante papel bien conocido en la prevención de los defectos del tubo neural, como la espina bífida en neonatos (Czeizel y col., 1992). En cuanto a su relación con el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, existen claras evidencias epidemiológicas que sugieren que unos niveles elevados ($>15\mu\text{mol/L}$) de homocisteína en plasma constituye un factor de riesgo independiente para las enfermedades cardiovasculares (Boushy y col., 1995; Malinow y col., 1999). Sin embargo, una ingesta elevada de ácido fólico reduce los niveles de homocisteína de modo que una dosis extra de $200\mu\text{g}$ de ácido fólico diaria provoca una reducción de 11-12% de los niveles de homocisteína plasmática (West y col. 2004). También estudios en poblaciones han permitido establecer una relación negativa entre una alta ingesta de folatos y la aparición de adenomas colorectales (Giovannucci, 1993).

Investigaciones más recientes han dado a conocer la relación entre un bajo status de folatos y la aparición de enfermedades de tipo neurológico como demencia o enfermedad de Alzheimer (Mattson y col., 2002; Lewis y col., 1999; McCaddon y col., 1998; Eby y col., 1998; Clarke y col., 1998).

Métodos de determinación de folatos

El contenido total de folatos en alimentos venía determinándose tradicionalmente mediante métodos microbiológicos (Finglas, 1993). Con ellos sólo se estima el contenido total de folatos, pero no discrimina entre las diferentes formas químicas. Es conocido que los folatos en los alimentos están presentes en distintas formas químicas (tetrahidrofolato, metilfolato, formilfolato) y en varios estados de oxidación (5,6,7,8-tetrahidropteroilglutamato, etc), con diferentes sustituyentes del átomo de carbono y diferente grado de conjugación con el ácido glutámico. A fin de separar estas formas, se han ensayado métodos cromatográficos más precisos que los microbiológicos pero que poseen algunas peculiaridades que deben ser tenidas en cuenta.

Las recientes investigaciones desarrolladas para mejorar los métodos de determinación de folatos, han dado lugar a una mayor fiabilidad en la calidad de los datos

en las tablas de composición de alimentos, aunque el conocimiento de las formas de folatos naturales y su contenido y distribución en alimentos es todavía muy limitado (Kehlenbach and Nau, 2004) ya que algunos de estos derivados folatos son muy lábiles (debido a su sensibilidad a la luz y a que se reducen en presencia de oxígeno) (BLAKLEY, 1969), además de estar en muy baja cantidad en los alimentos.

Así, siguiendo el método cromatográfico descrito por Vahteristo y col., 1996 y bajo las directrices del Proyecto Europeo «Folate: From Food to Functionality and Optimal Health» (QLK1-1999-00576), se ha realizado un extenso estudio con la finalidad de establecer el contenido de folatos en gran cantidad de alimentos, completando así los datos no presentes en las Tablas de Composición de Alimentos españolas que actualmente se manejan (Tabla 3). También se han analizado alimentos elaborados con distintos métodos de procesado, a fin de determinar la posible influencia del tratamiento tecnológico sobre el contenido final de folatos, así como se ha valorado la biodisponibilidad del ácido fólico añadido a los alimentos frente a la de los folatos naturales.

Tabla 3: Contenido de folatos en frutas y verduras determinados por cromatografía líquida de alta resolución (mg/100 g de producto fresco).

<i>Alimentos</i>	<i>UMU 2004</i>	<i>Vahteristo y Col, 1997</i>	<i>Konings, 2001</i>	<i>Moreiras y Col, 2003</i>
Patata	-	23	-	12
Brócoli	92.27	94	65±24	90
Coles de Bruselas	55.58	94	87±28	79
Pepino	12.03	9	5±1	16
Tomate crudo	15.06	11	8±3	28
Cebolla	16.78	13	10	16
Pimiento rojo	40.71	55	-	11
Lechuga	-	51	43±11	34
Escarola	108.01	-	-	34
Espárrago	71.28	-	56±0	30
Guisante fresco	49.04	-	-	78
Guisante congelado	52.55	55	-	78
Guisante enlatado	20.11	-	-	-
Espinaca	183.29	-	100	140
Acelga	148.50	-	-	140

UMU: Universidad de Murcia. Grupo de Nutrición y Bromatología (E098-02), Facultad de Veterinaria.

Una de las conclusiones más importantes a las que se ha llegado tras el cierre de dicho Proyecto es la posibilidad de obtener una dieta equilibrada en cuanto al contenido de folatos, a través del consumo de alimentos ricos en esta vitamina. Por otro lado, también se ha establecido el hecho de poder incrementar el contenido de folatos en alimentos procesados sin necesidad de enriquecerlos con ácido fólico sintético, sino simplemente modificando su formulación en función de ingredientes con alto contenido en folatos (Olivares y col., 2004).

De esta manera, aparecen nuevas perspectivas en cuanto al área que a la Tecnología de los alimentos compete en relación a la obtención de alimentos de mayor valor nutricional y que a su vez tengan un papel esencial en la salud humana.

Agradecimientos

A la Comisión europea por la financiación del Proyecto: «Folate: From food to functionality and optimal health» (QLK1-1999-00576). Al Ministerio de Ciencia y Tecnología por la concesión de los Proyectos: AGL2000-2482-CE.

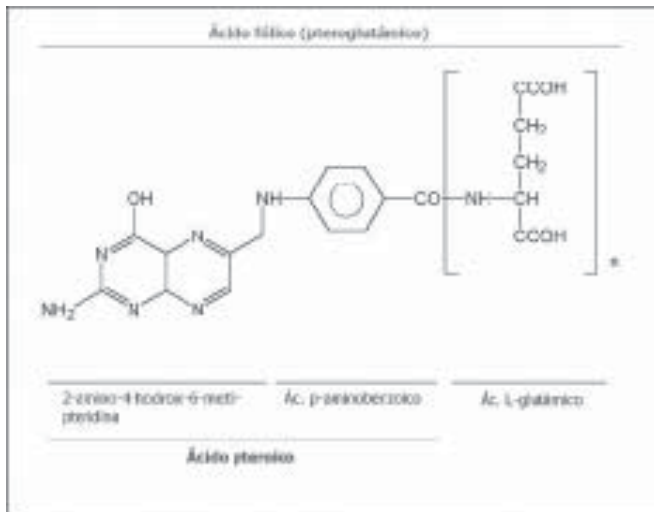


Figura 1.- Estructura química del ácido pteroilglutámico

Referencias bibliográficas

- Blakley R.L., 1969. The Biochemistry of Folic Acid and Related Pteridines. North Holland Publishing Company, Amsterdam.

- Blakley, L., 1988. IUPAC-IUB joint commission on biochemical nomenclature (JCBN). Nomenclature and symbols for folic acid and related compounds. Recommendations 1986. *J. Biol. Chem.* 263 (1): 605-607.
- Boushey, C.J., Beresford S.A.A., Omen G.S., Motulsky A.G., 1995. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. *J. Am Med Assoc*; 274: 1049-57.
- Chandler, C.J., Wang, T.T.Y., Halsted, C.H., 1986. Pteroylpolyglutamate hydrolase from human yeyunal brush borders. Purification and characterization. *J. Biol. Chem.* 261: 928-933.
- Combs, G.F.Jr., 1992. *The Vitamins. Fundamental aspects in Nutrition and Health.* Academic press, San Diego, CA.
- Crane, N.T., Wilson, D.B., Cook D.A., Lewis, C.J., Yetley, E.A. and Rader J.I., 1995. Evaluating food fortification options: General principles revisited with folic acid. *Am J Public Health* 85 (5): 660-666.
- Cuskelly, G.J., McNulty, H., Scott, J.M., 1996. Effect of increasing dietary folate on red-cell folate: implications for prevention of neural tube defects. *Lancet.* 347: 657-659.
- Czeizel A.E., Dudas, I., 1992. Prevention of the first occurrence of neural-tube defects by periconceptional vitamin supplementation. *N Engl J Med.* 327:1832-1835.
- de Bree A., van Dusseldorp M., Brower I.A., van het Hof K.H., Steegers-Theunissen R.P.M., 1997. *Eur J Clin Nutr* 51: 643-660.
- Eby E.M., Schaffer J.P., Campbell N.R.C. and Hogan D., 1998. Folate status, vascular disease and cognition in elderly Canadians. *Age and Ageing* 27: 485-491.
- FAO/OMS. 2002. *Human Vitamin and Mineral Requirements. Report of a joint FAO/WHO expert consultation, Bangkok, Thailand.* Ed. WORLD HEALTH ORGANIZATION, FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, Rome.
- Finglas P.M., Faure U., Southgate D.A.T., 1993. First BCR-intercomparison in the determination of folates in food. *Food Chemistry*; 46: 199-213.
- Giovannucci E., Stampfer M.J., Colditz G.A., Rimm E.B., Trichopoulos D., Rosner, B.A., Speizer, F.E., Willet W.C., 1993. Folate, methionine and alcohol intake and risk of colorectum adenoma. *J Natl Cancer Inst.* 85:875-84.
- Gregory III J.F., 1995. The bioavailability of folate. 1995. In: *Folate in Health and Disease.* Bailey LB, ed. 195-235. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Gregory III J.F., 1996. Vitamins. In: *Food Chemistry, 3rd.* Fennema, O.R. (ed.), p. 531-616. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Gregory III J.F., 1997. Bioavailability of folate. *Eur J Clin Nutr.* 51:S54-S59.
- Institute of Medicine. 1998. Subcommittee on Folate, Other B Vitamins, and Choline. *Dietary Reference Intakes: Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline.* Washington, DC. National Academy Press;. Prepublication copy.
- Kehlenbach, U. and Nau H., 2004. HPLC coupled with Microbiological Assay for the determination of folate monoglutamates in foodstuff and biological samples.

- Konings, E.J.M., 2001. Dietary folates in human nutrition, analysis, intake, bioavailability and association with colorectal cancer. Doctoral Thesis. University of Maastricht.
- Konings, E.J.M., Roomans, H.H.S., Dorant, E., Goldbohm, R.A., Saris, W.H.M., van den Brandt., 2001. Folate intake of the Dutch population according to newly established liquid chromatography for foods. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 73:765-76.
- Le Grusse, J., Watier, B., 1993. Les Vitamines. Données biochimiques, nutritionnelles et cliniques. Centre d'étude et d'information sur les vitamines. Produits Roche, Neuilly-Sur-Seine Cedex.
- Lewis C.J., Crane N.T., Wilson D.B., Yetley E.A., 1999. Estimated folate intakes: data updated to reflect food fortification, increased bioavailability, and dietary supplement use. *Am J Clin Nutr* 70, 198-207.
- Malinow M.R., Duell P.B., Hess D.L., Anderson, P.H., Kruger W.D., Phillipson, B.E., Gluckman R.A., Block P.C. and Upson B.M., 1998. Reduction of plasma homocysteine levels by breakfast cereal fortified with folic acid in patients with coronary heart disease. *N Engl J Med*. 338: 1009-1015.
- Mattson M.P., Kruman I.I., Duan W., 2002. Folic acid and homocysteine in age-related disease. *Ageing Res Rev* 1(1): 95-111.
- McCaddon A., Davies G., Hudson P., Tandy S., Cattell H., 1998. Total serum homocysteine in senile dementia of Alzheimer type. *International Journal of Geriatric Psychiatry*.13:235-9.
- Moreiras, O., Carbajal, A., Cabrera, L., Cuadrado, C., 2003 *Tablas de Composición de Alimentos*. 7ª edición. Ediciones Pirámide (Grupo Anaya, S.A.). Madrid.
- Olivares, A.B., Bernal, M.J., Ros, G., Martínez, C. and Periago, M.J. 2004. Processing effect on folates in green peas and Gazpacho. *Book of Abstracts. First International Conference on folates analysis, bioavailability and health*. Warsaw Agricultural University Press.
- Pfeiffer C.M., Rogers L.M., Gregory J.F., 1997. Determination of folate in cereal-grain food products using trienzyme extraction and combined affinity and reversed-phase liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem*. 45(2): 407-413.
- Romano P.S., Waitzman N.J., Schieffler R.M., 1995. Folic acid fortification of grain: an economic analysis. *Am J Public Health*. 85 (5): 667-676.
- Sauberlich H.E., Kretsch M.J., Skala J.H., Johnson, H.L., Taylor, P.C., 1987. Folate requirement and metabolism in nonpregnant women. *Am J Clin Nutr*. 46:1016-28.
- Tucker, K.L., Selhub, J., Wilson, P.W. Rosenberg, I.H., 1996. Dietary intake pattern relates to plasma folate and homocysteine concentrations in the Framingham Heart Study. *J. Nutr*. 126:3025-3031.
- Vahteristo L.T., Ollilainen V., Koivistoine P.E., Varo P., 1996. Improvements in the analysis of reduced folate monoglutamates and folic acid in food by high-performance liquid chromatography. *J Agric Food Chem*. 44: 477-82.
- Vahteristo, L., Lehtikoinen, K., Ollilainen, V., Varo, P. 1997. Application of an HPLC assay for the determination of folate derivatives in some vegetables, fruits and berries consumed in Finland. *Food Chemistry*. Vol. 59, nº 4, pp. 589-597.
- West Suitor C., Bailey L.B., 2000. Dietary folate equivalents: Interpretation and application. *Journal of The American Dietetic Association*, 100: 88-94.

- West, C.E., de Jong, R.J., Verwei, M., van Vliet, T., Siebelink, E., van der Berg, H., Castenmiller, J.J.M., 2004. Bioavailability of folic acid added to pasteurized and UHT-treated milk in humans. Book of Abstracts. First International Conference on folates analysis, bioavailability and health. Warsaw Agricultural University Press.