

Afslutningsrapport

Mælkemineralblanding til kalciumberigelse af fødevarer

Mejeribrugets ForskningsFond

Rapport nr. 2004-62

September 2004



mejeriforeningen

danish dairy board

AFSLUTNINGSRAPPORT FOR PROJEKTET

Mælke mineralblanding til kalciumberigelse af fødevarer

Projektperiode 01.05.00 – 30.04.04

Projektledere:

Lektor Marianne Hansen, Institut for Human Ernæring, KVL (til 31.08.02)

Lektor Klaus Bukhave, Institut for Human Ernæring, KVL (fra 20.09.02)

Projektdeltagere:

Professor Brittmarie Sandström, Institut for Human Ernæring, KVL (afgået ved døden 20.10.02)

Forskningsassistent Lisbeth Grinder-Pedersen, Institut for Human Ernæring, KVL
Seniorforsker Torben Larsen, Afd. for Husdyrsundhed og Velfærd, DJF

Finansieringskilder:

Mejeribrugets ForskningsFond, Mejeriforeningen, Århus

Direktoratet for FødevarerErhverv (FØTEK 3)

Resumé

Formål

At undersøge biotilgængeligheden af calcium fra fødevarer beriget med mælke mineralblandinger sammenlignet med fødevarer beriget med et kalciumsalt. Fra brød beriget med mælke mineralerne MM-0525 og MM-1217 samt med CaCO₃ måles calciumoptagelsen og eventuelle forskelle mellem unge og postmenopausale kvinder samt den mulige interaktion med jernabsorption undersøges. Endvidere undersøges virkningen af CaseinPhosphoPeptid (CPP) på calciumoptagelsen når CPP tilsættes et grødmåltid. Disse humanforsøg suppleres med rotteforsøg over tilgængeligheden af mælke mineralblandinger og CaCO₃ samt med *in vitro* forsøg i Caco-2 celler. I den klassiske Caco-2-cellemodel undersøges, om calcium påvirker jernabsorptionen, og i et nyudviklet "3-tier" system undersøges virkningen af osteopontin på calciumtransporten efter en *in vitro* fordøjelse med pepsin og pancreatin.

Resultater

Caco-2 celleforsøgene viste ingen effekt af calcium på jernoptagelsen og ingen effekt af osteopontin på calciumtransporten efter en *in vitro* fordøjelse der simulerer henholdsvis mavens og tyndtarmens fordøjelse.

Rotteforsøgene viste ingen forskel i tilgængeligheden af mælke mineralerne MM-0525, MM-1217 og CaCO₃ tilført på samme niveau, mens calciumniveauet påvirkede andre processer som f. eks. proteinudnyttelsen fra foderet.

Humanforsøgene viste ingen forskel mellem calciumoptagelsen fra brød beriget med MM-1217 og CaCO₃, mens optagelsen fra MM-0525- var signifikant mindre end fra CaCO₃-beriget brød. CPP 0.5 og 1.0 g per portion grød havde ingen virkning på calciumoptagelsen. Calciums påvirkning af jernabsorptionen blev undersøgt i et 4 × 4 dages fuldkostforsøg hvor perioderne bestod af basiskost med lav calcium (224 mg Ca/dag), basiskost + 3 × 1 glas mælk (826 mg Ca/dag), basis kost beriget med calciumlaktat (802 mg Ca/dag) og basiskost beriget med MM-0525 (801 mg Ca/dag). Der fandtes ingen signifikant forskel mellem de 4 perioder (P>0.3).

Konklusion

Der blev ikke påvist nogen gunstig virkning af mælke mineraler til calciumberigelse sammenlignet med CaCO₃, hverken i rotte- eller humanforsøgene, i sidstnævnte snarere en tendens til det modsatte ved berigelse af brød, hvor mælke mineraler tilsyneladende beskyttede phytinsyren mod nedbrydning under hævnningen. CPP havde ingen positiv effekt på calciumabsorptionen ved tilsætning til børnegrød. Osteopontin havde ingen virkning på calciumtransporten i Caco-2 celler efter *in vitro* fordøjelse med pepsin og pepsin + pancreatin. I Caco-2 celler virkede CaCO₃ ikke som hæmmer af jernoptagelsen og i fuldkostforsøg over 4 dage havde calcium fra mælk, MM-0525 og calciumlaktat fandtes ingen negativ indvirkning på jernoptagelse, som det ellers er vist i enkelt måltidsstudier. I konsekvens heraf er der ikke grund til at opretholde den svenske anbefaling om ikke at drikke mælk til hovedmåltiderne.

Abstract in English

Aim

To investigate the bioavailability of calcium from food fortified with milk mineral isolates compared to foods fortified with inorganic calcium salts. Calcium uptake is determined from bread fortified with milk mineral isolates MM-0525 and MM-1217 and compared to that obtained from bread fortified with CaCO₃. Differences in calcium absorption among pre- and postmenopausal women were studied, in addition to the putative interaction of calcium with iron absorption. Furthermore, the effect of CaseinPhosphoPeptide (CPP) on calcium uptake is studied when CPP is added directly to an infant rice-based cereal. These experiments in humans are supplied by rat studies on the availability of milk mineral isolates and CaCO₃ and *in vitro* experiments with Caco-2 cell monolayers. The classical Caco-2 cell model is used for experiments on the interaction of calcium with iron absorption, and a newly developed “3-tier” system is used to determine the effects of osteopontin on calcium transport following an *in vitro* digestion with pepsin and pancreatin.

Results

The Caco-2 experiments revealed no effects of calcium on iron uptake and no effects of osteopontin on calcium transport following an *in vitro* digestion simulating that of the stomach and the small intestine. The rat experiments showed no differences in the availability of calcium from the milk mineral isolates MM-0525 and MM-1217 and CaCO₃ given at the same level, while the calcium level influenced other processes like the protein utilization from the feed. The human experiments revealed no differences in calcium absorption from bread fortified with MM-1217 and CaCO₃, while the absorption from MM-0525- was significant lower than from CaCO₃-fortified bread. The influence of calcium on iron absorption was elucidated in a 4 × 4 days whole diet experiment with following periods, a basal diet with low calcium (224 mg Ca/day), the basal diet + 3 x 1 glass of milk (826 mg Ca/day), the basal diet fortified with calcium lactate (802 mg Ca/day), and the basal diet fortified with MM-0525 (801 mg Ca/day). No significant differences were observed between these 4 periods (P>0.3).

Conclusion

No favorable effects of calcium fortification with milk mineral isolates compared to CaCO₃ were observed, neither in human nor in rat experiments. A tendency to the opposite was observed in the human studies with fortification of bread, where milk mineral isolates seem to protect phytic acid against degradation during fermentation of the dough. CPP had no positive effect on calcium absorption following addition to infant rice-based cereal. Osteopontin had no effect on calcium transport across Caco-2 cells monolayer following *in vitro* digestion with pepsin or with pepsin + pancreatin. CaCO₃ did not inhibit iron absorption in Caco-2 cells. No inhibition of iron absorption from a whole diet consumed as four 4-d diets in a randomized crossover design. Consequently, there is no reason to preserve the Swedish recommendations of not drinking milk to the main meals.

Baggrund

På trods af den generelle høje indtagelse af calcium i Danmark, er visse befolkningsgrupper i risiko for at få for lidt calcium (1). Blandt børn, der kun indtager en ringe mængde eller slet ingen mælkeprodukter, ses en calciumindtagelse, som ligger betydeligt under det anbefalede (1,2). Disse anbefales at tage calciumtilskud (1). Gravide kvinder, der ikke indtager mælkeprodukter er ligeledes i risiko for utilstrækkelig calciumindtagelse pga den store mængde calcium, som kræves til opbygning af fosterets knogler. Samtidig er det alment anerkendt, at en høj calciumindtagelse mindsker risikoen for osteoporose hos postmenopausale kvinder (1,3). Et alternativ til indtagelse af calciumsupplementer kunne være calciumberigelse af udvalgte basislevnedsmidler eller funktionelle calciumberigede levnedsmidler ("functional foods") til specifikke befolkningsgrupper.

I modsætning til et flertal af andre europæiske lande er det i Danmark ikke tilladt at berige kosten med calcium. Som calciumkilde ved berigelse benyttes ofte calciumsalte som –karbonat og –phosphat. Der er udført få studier over biotilgængeligheden af calcium fra calciumberigede levnedsmidler. Calciumabsorption fra calcium-citrat-malat beriget appelsinjuice er fundet bedre end fra mælk (4), og van Dokkum *et al.* fandt høj calciumabsorption fra ost fremstillet således at calciumtabet fra vallen var minimaliseret (5). Calciumberigelse af juice har herhjemme været foretaget med en mælkemineralblanding, der deklarerer sig som levnedsmiddelingrediens. Da calcium fra mælkeprodukter vides at have en høj biotilgængelighed (6), er det også muligt at calcium absorberes tilsvarende godt fra fødevarer beriget med mælkecalcium. Indholdet af diverse bioaktive proteiner og peptider er en af de mulige forklaringer på den høje tilgængelighed af flere mineraler fra mælk (7,8). Mælkemineralblandinger indeholder proteiner og peptider primært stammende fra valleprotein, idet kasein, der udgør 80% af mælkeprotein, er separeret fra. Det er vist at kasein kan binde visse mineraler, hvilket formodentlig er en af årsagerne til, at modernælk har en højere biotilgængelighed af bl.a. calcium, jern, zink, kobber og mangan end komælk (9,10), idet modernælk kun indeholder 40% kasein.

Mælkemineralblandinger indeholder en række andre mineraler end calcium, hvoraf flere er særdeles vigtige for knoglerne (zink, magnesium og visse ultra-sporelementer), og som endvidere kunne tænkes at give en bedre balance i mineralabsorptionen end berigelse med rene calciumsalte. Her tænkes specielt på den negative virkning, man har fundet af calcium på jernoptagelsen (11), som har ført til, at man i Sverige anbefaler, at børn indtager mælk udenfor hovedmåltiderne.

De teknologiske fordele i form af bedre suspenderbarhed/stabilitet i en fødevarer samt det ernæringsmæssige potentiale af mælkemineralet kunne gøre dette at foretrække frem for rene calciumsalte. Det er dog vigtigt i forbindelse med næringsstof- og sundhedsanprisninger at have dokumentation herfor, dels på grund af det formodede krav til dokumentation for bl.a. biotilgængelighed fra myndighedernes side (12), dels fordi en lav tilgængelighed fra et beriget levnedsmiddel ville være vildledning af forbrugeren.

Til belysning af mælkemineralers potentielle anvendelighed indenfor human ernæring, er det essentielt at anvende humanforsøg. En nøjagtig beskrivelse af virkningsmekanismer og kinetikken i absorptionen, hvilket kan føre til en mere grundlæggende forståelse af den humane mineralmetabolisme, vanskeliggøres dog fordi talrige parametre påvirker intestinal iontransport, motilitet og blodgennemstrømning. *In vitro* undersøgelser derimod – om end kunstige – tillader præcise bestemmelser under veldefinerede omstændigheder samt manipulationer med cellulære kontrolmekanismer, som vanskeligt kan udføres *in vivo*. Caco-2 celler er afledt fra et humant colon adenocarcinom. Under specifikke vækstbetingelser prolifererer og differentierer disse humane cancerceller som epithelceller fra tyndtarmen (enterocytter, jejunocytter) med disses karakteristika såvel enzymatisk, elektrofysiologisk som på receptorniveau. Caco-2 celler dyrket i monolag er en velegnet model til studier af de basale mekanismer for absorption og transport af næringsstoffer, herunder mineraler, i den humane tyndtarm (13). Samtidig med at man ser på selve absorptionen af calcium fra en given kilde, er det relevant også at undersøge påvirkningen af knogleopbygning/nedbrydning. Idet rotters

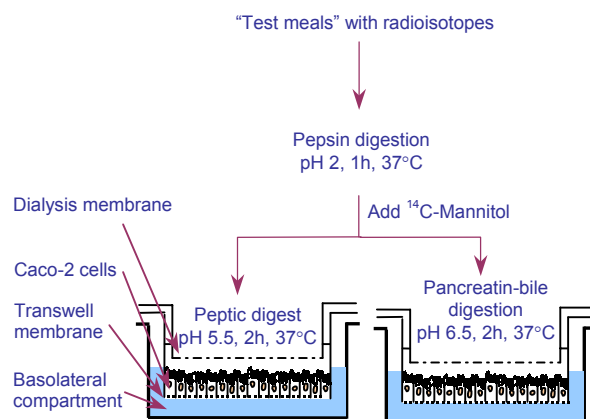
kalciummetabolisme svarer til menneskets, giver måling af knoglernes mineraliseringsgrad og komposition samt analyse af relevante mineraler for knogleopbygning i rotter efter langtids-balanceforsøg relevante supplerende oplysninger.

En kombination af human absorptionsforsøg, balanceforsøg i rotter samt kinetiske studier i en human tarmcellekultur vil således give et bredt billede af den ernæringsmæssige betydning af mælke-mineral set i forhold til gængse uorganiske salte.

Resultater

Caco-2 celle forsøg

Absorptionsforsøg med Caco-2 celler udføres i to forskellige systemer. Det første er et tre kompartmentsystem bestående af et apikalt-, et celle- og et basolateralt kompartiment. Dette system anvendes til undersøgelse af jern-kalcium interaktion. I det andet system (15) indføres et kompartiment mere apikalt adskilt af en dialysemembran således at der undgås kontakt mellem cellerne og enzymer fra fordøjelsesprodukter, der tilsættes systemet (se figur 1). Dette sidstnævnte system er et nyudviklet system, der anvendes til undersøgelser af osteopontin's virkning på kalciumabsorptionen.

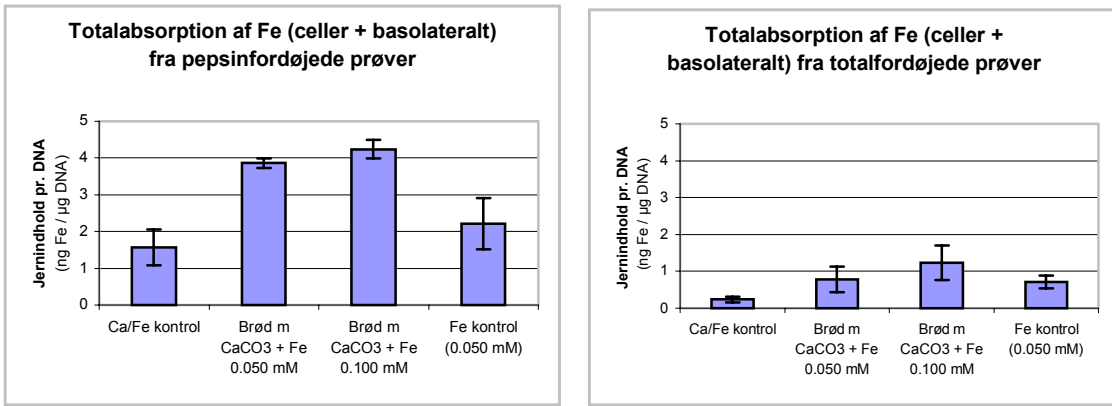


Figur 1.

Det nyudviklede "three-tier system" til undersøgelse af absorption og transport i Caco-2 celler. Fordøjelsesprodukterne er adskilt i en gastrisk og en gastrisk-tyndtarmsfase. ¹⁴C-mannitol tilsættes som en non-absorberbar markør.

Jern-kalcium interaktion

Caco-2 celle forsøg viste ingen forskel i absorptionen af kalcium fra brød beriget med henholdsvis MM-0525, MM-1217 og CaCO₃, hvorfor der forsættes med anvendelse af CaCO₃ beriget brød til undersøgelserne af en mulig kalcium-jern interaktion. Som det ses af figur 2 var der ingen hæmning af jernabsorptionen ved tilstedeværelse af kalcium, hverken fra gastrisk fordøjelse med pepsin eller fra gastrisk-tyndtarms fordøjelse med pepsin + pancreatin.

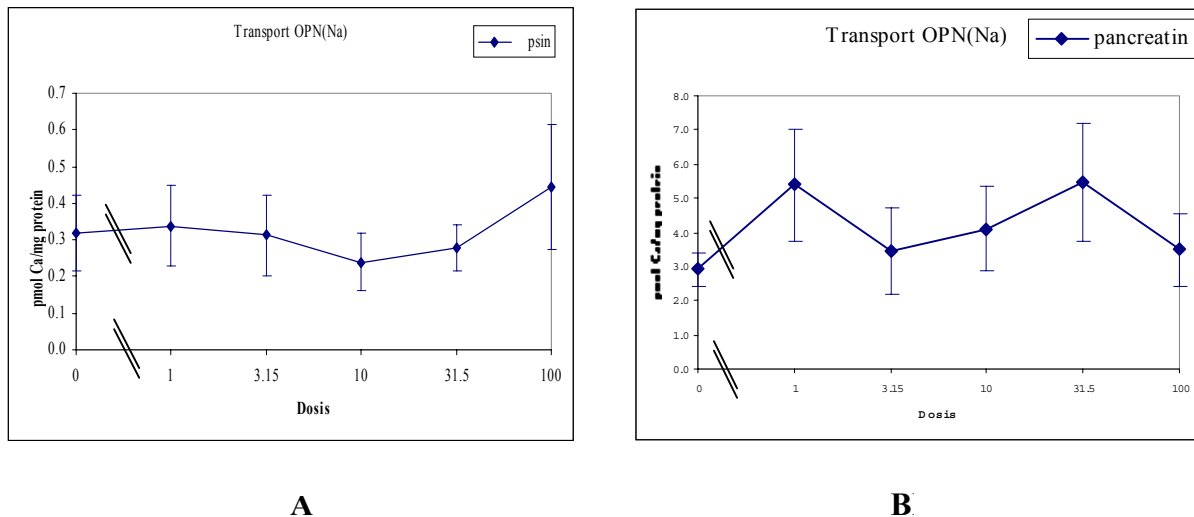


Figur 2.

Totalabsorption af Fe (optagelse i cellerne + transport til det basolaterale kompartiment) fra brød beriget med CaCO₃ og henholdsvis 50 og 100 µM jern. Venstre side af figuren viser optagelse efter gastrisk fordøjelse, mens højre side viser optagelse efter fordøjelse der simulerer mavens + tyndtarmens fordøjelse.

Osteopontin's virkning på kalciumabsorption

Osteopontin's virkning på kalciumoptagelse og -transport i Caco-2 celler med anvendelse af "3-tier system" (figur 1). Ud fra koncentrationen af osteopontin i mælk og tyndtarmens overflade skønnes en rimelig koncentration at være ca. 6 µg/mL. Der udføres derfor dosis-respons forsøg over et koncentrationsområde på 2 dekader fra 1 µg/mL til 100 µg/mL for ikke at overse en mulig effekt. Der fandtes ingen effekt af osteopontin i det nævnte område på kalciumtransporten i Caco-2 celler, hverken efter fordøjelse med pepsin eller efter fordøjelse med pepsin og pancreatin (figur 3). Den manglende effekt kunne skyldes at osteopontin kun i ringe grad nedbrydes af de anvendte enzymer og derfor ikke kan passere dialysemembranen.



Figur 3.

A. Dosis-respons for osteopontin's virkning på kalciumtransport over Caco-2 celler efter gastrisk fordøjelse med pepsin. Der fandtes ingen forskelle i et koncentrationsområde over 2 dekader.
 B. Dosis-respons for osteopontin's virkning på kalciumtransporten over Caco-2 celler efter fordøjelse med pepsin + pancreatin. Der fandtes ingen forskelle indenfor et koncentrationsområde over 2 dekader.

Rotteforsøg

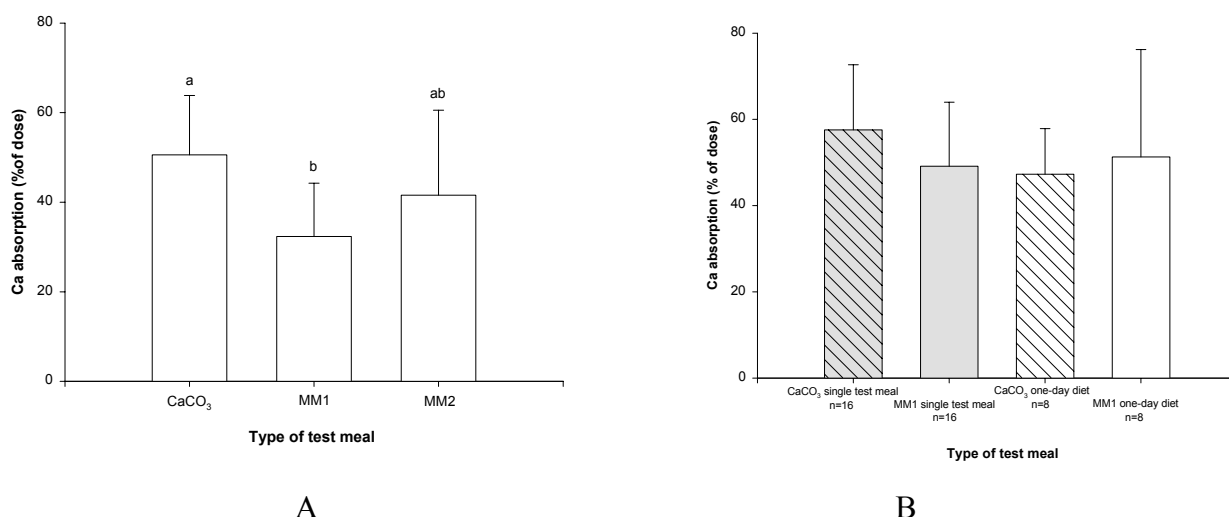
I rotteforsøg blev tilgængeligheden af calcium fra tre calciumkilder (MM-0525, MM-1217 og CaCO_3) undersøgt. Forsøget blev udført som balanceforsøg, hvor dyrenes foder (som understøtter maksimal vækst) blev suppleret med de nævnte calciumkilder. Der blev ikke påvist forskelle i tilgængeligheden af calcium fra de 3 kilder, når de tildeles på samme niveau. Calciumniveauet i foderet indvirkede derimod på mange af de andre undersøgte processer i stofomsætningen, herunder proteinudnyttelse fra foderet, total mineral- (aske-) absorption, fraktionel calciumabsorption og retention. Højere calciumindtagelse resulterede i kraftigere knoglebygning, generelt øget mineralisering af knoglevæv, men reduceret indhold af magnesium og zink i knoglerne.

Humanstudier

Humanstudierne af calciumabsorptionen blev udført som enkeltmåltidsforsøg med anvendelse af brød beriget med mælke mineral MM-0525, MM-1217 eller CaCO_3 . Et andet studie undersøgte virkningen af henholdsvis 0, 0.5 og 1 gram CaseinPhosphoPeptid (CPP) på calciumabsorptionen fra et grødmåltid. Begge studier blev udført i et randomiseret overkrydsnings design, hvor de enkelte måltider var mærket med ^{47}Ca . Undersøgelsen af jern-kalcium interaktionen blev udført som 4-dages fuldkostforsøg med 4 forskellige måltider: Et kontrolmåltid samt kontrolmåltidet suppleret med samme mængde calcium fra henholdsvis mælk, mælke mineral MM0525 og calciumlaktat. Alle måltider var mærket ^{59}Fe til samme specifikke aktivitet. Absorptionen af de radioaktive isotoper blev målt ved helkropstælling på Rigshospitalet.

Kalciumberiget brød

Kalciumabsorptionen blev målt hos 9 præmenopausale og 16 postmenopausale kvinder (figur 4). Enkeltmåltidsstudier var baseret på brød beriget med henholdsvis mælke mineralerne MM-0525 og MM-1217 samt CaCO_3 , mens heldags kostforsøg var baseret på brød beriget med MM-0525 og CaCO_3 . Kalciumabsorptionen hos præmenopausale kvinder var signifikant lavere ($p < 0.05$) fra brød beriget med MM-0525 end fra brød beriget med CaCO_3 , mens brød med MM-1217 medførte en aritmetisk, men ikke signifikant, lavere calciumabsorption sammenlignet med CaCO_3 .



Figur 4.

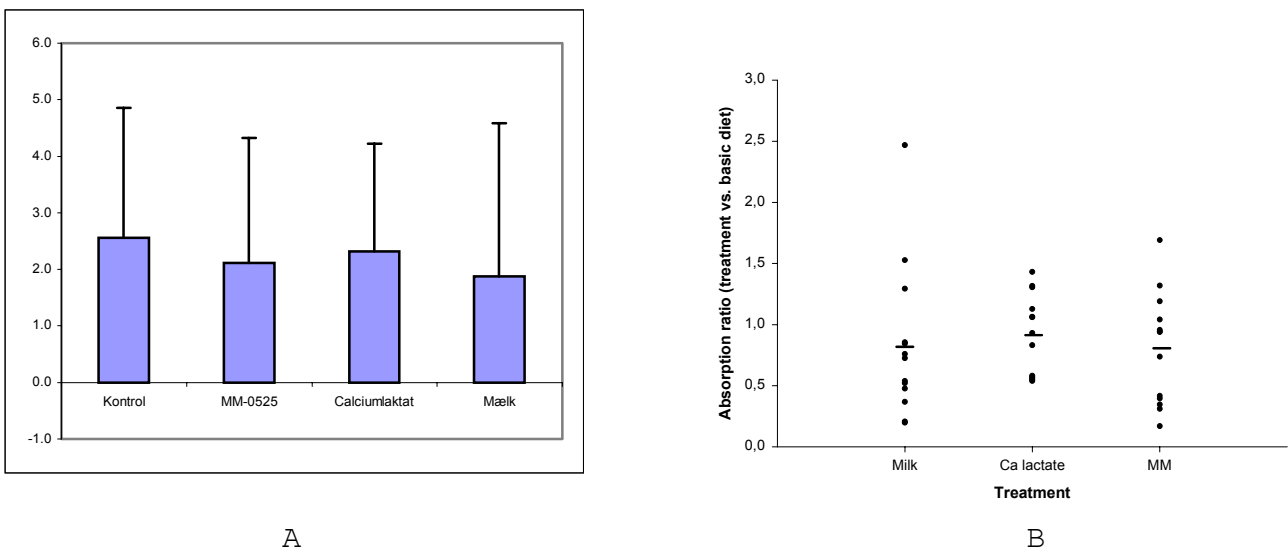
A. Den procentvise absorption af calcium hos præmenopausale kvinder i et enkelt måltids studie med brød beriget med MM-0525 (166 mg Ca), MM-1217 (141 mg Ca) og CaCO_3 (kontrol, 150 mg Ca). Mean \pm SD, N=10. Forskellige bogstaver indikerer signifikant forskel ($P < 0.05$).

B. Den procentvise absorption af calcium hos postmenopausale kvinder i et enkeltmåltids- og heldags kostforsøg med brød beriget med CaCO_3 og MM-0525 (150 og 166 mg Ca samt 300 og 332 mg Ca for henholdsvis enkelt måltids- og heldags kostforsøg). Mean \pm SD, N=8 eller 16.

Hos postmenopausale kvinder fandtes ingen signifikant forskel ved sammenligning mellem MM-0525 og CaCO_3 ($49.2 \pm 14.8\%$ vs $57.6 \pm 15.1\%$, $\text{mean} \pm \text{SD}$, $P > 0.05$). Absorptionen fra MM-0525 beriget brød var 32% lavere hos præmenopausale sammenlignet med postmenopausale kvinder ($P < 0.05$), mens der ingen forskel fandtes mellem kalciumabsorptionen fra enkelt måltids- og hel-dags kostforsøg med MM-0525 og CaCO_3 hos postmenopausale kvinder. Måling af phytinsyreindholdet i brødet viste variation alt efter berigelsen, idet der fandtes et phytinsyreindhold (IP_{3-6} , $\text{mg}/100 \text{ g}$ vådvægt) på henholdsvis 21, 58 og 48 efter berigelse med CaCO_3 , MM-0525 og MM-1217. Det virker således som om mælke mineraler beskytter phytinsyren mod nedbrydning under hævning af dejen og at det kunne være forklaringen på den lavere kalciumabsorption med MM-0525.

Jern-kalcium interaktion

Undersøgelsen af den mulige jern-kalcium interaktion er foretaget som måling af jernabsorptionen hos 14 unge kvinder i et 4×4 dages fuldkostforsøg med berigelse med forskellige kalciumkilder. De forskellige kostperioder bestod af en basiskost med lavt kalciumindhold (224 mg Ca/dag), basiskost + 3 \times 1 glas mælk (826 mg Ca/dag), basiskost beriget med kalciumlaktat (802 mg Ca/dag) og basiskost beriget med MM-0525 (801 mg Ca/dag). Der fandtes ingen signifikant forskel mellem perioderne ($P > 0.3$, figur 5).



Figur 5.

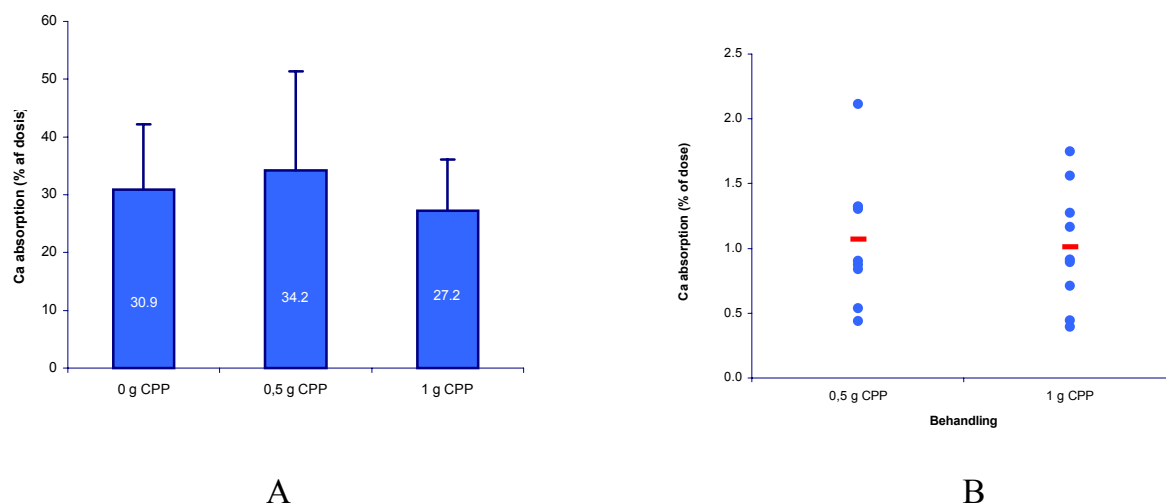
A. Procentvis absorption af jern hos 14 unge kvinder efter 4×4 dages fuldkostforsøg med henholdsvis en kontrolperiode (224 mg Ca/dag) og 3 interventionsperioder med høj kalcium (ca 800 mg Ca/dag) fra 3 forskellige kalciumkilder. Der er ingen signifikant forskel mellem perioderne ($P > 0.3$)

B. Absorptionsratioen dvs jernabsorptionen i interventionsperioderne divideret med jernabsorptionen i kontrolperioden. Absorptionsratioerne er ikke forskellige fra 1 ($P > 0.15$).

CaseinPhosphoPeptiders (CPP) virkning på kalciumabsorption

Optagelsen af kalcium fra 3 enkeltmåltider i 9 unge kvinder blev målt ved isotopteknik med anvendelse af $^{47}\text{CaCl}_2$. Hver kvinde fik 3 måltider (givet med minimum 7 ugers mellemrum) bestående af en børnegrød beriget med 1) 0 g CaseinPhosphoPeptid (CPP) 2) 0,5 g CPP eller 3) 1 g CPP. Da CPP indeholder kalcium, blev indholdet af kalcium i de tre forskellige testmåltider justeret til det samme niveau (420-454 mg) ved hjælp af CaCO_3 . Data viste, at den procentuelle absorption af

kalcium $30.9 \pm 11.3\%$, $30.5 \pm 13.4\%$ og $27.9 \pm 9.2\%$ ikke var forskellige ($P > 0.8$, figur 6A) fra måltiderne med hhv. 0, 0,5 og 1 g CPP. Absorptionsforholdet beregnet som forholdet mellem interventionsmåltiderne og kontrolmåltidet var ikke forskellige fra 1, nemlig 1.07 ± 0.51 and 1.01 ± 0.47 for måltiderne tilsat henholdsvis 0.5 og 1.0 g CPP. Der var således ingen signifikant forskel ($P = 0.80$) på absorptionen af kalcium fra de tre testmåltider (fig. 6B).



Figur 6.

A. Den procentvise absorption af kalcium hos 9 unge kvinder efter indtagelse af børnegrød beriget med CaCO_3 , 0.5 g CPP og 1 g CPP til samme niveau kalcium. Mean \pm SD, N=9. Der er ingen signifikant forskel ($P > 0.05$).

B. Individuelle absorptionsforhold for grød beriget med henholdsvis 0.5 og 1 g CPP beregnet i forhold til kontrolmåltidet. Gennemsnittet er ikke forskelligt fra 1.

Konklusion

Der blev ved de udførte forsøg ikke påvist nogen gunstig virkning af mælke mineraler til kalciumberigelse sammenlignet med CaCO_3 , men snarere en tendens til en ugunstig virkning ved berigelse af brød, hvor mælke mineraler tilsyneladende beskyttede phytinsyren mod nedbrydning under hævnin-gen af dejen. CPP havde ingen positiv effekt på kalciumabsorptionen ved tilsætning til børnegrød. Osteopontin havde ingen virkning på kalciumtransporten i Caco-2 celler efter *in vitro* fordøjelse med pepsin og pepsin + pancreatin. Det blev i fuldkostforsøg over 4 dage vist at kalcium fra mælk, MM-0525 og kalciumlaktat ikke havde nogen negativ indvirkning på jernoptagelse, som det ellers er vist i enkeltmåltidsstudier. I konsekvens heraf er der ikke grund til at opretholde den svenske anbefaling om ikke at drikke mælk til hovedmåltiderne.

Referencer

1. Michaelsen KF, Astrup A, Mosekilde L, Richelsen B, Schroll N, Sørensen OH. Ernæringsrådet. Ernæringens betydning for forebyggelse af knogleskørhed. København: Ernæringsrådet, Lægeforeningens Forlag, 1994.
2. Mølgaard C, Michaelsen KF. Children's requirement for dietary calcium. *Ugeskr Laeger* 1994;156:965-9.
3. Heaney R. Evaluation of publicly available scientific evidence regarding certain nutrient-disease relationships 3. Calcium and osteoporosis. Bethesda, MD: Life Science Office, 1991.
4. Smith KT, Heaney RP, Flora L, Hinders SM. Calcium absorption from a new delivery system (CMM). *Calcif Tissue Int* 1987;41:351-2.
5. Van Dokkum W, De La Guèronnière V, Schaafsma G, Bouley C, Luten J, Latgé C. Bioavailability of calcium of fresh cheeses, enteral food and mineral water. A study with stable calcium isotopes in young women. *Br J Nutr* 1996;75:893-903.
6. Miller DD. Calcium in the diet: food sources, recommended intakes, and nutritional bioavailability. *Adv Food Nutr Res* 1989;33:103-56.
7. Hansen M. Effect of casein phosphopeptides on zinc and calcium absorption evaluated in experimental models and humans. Ph.D. afhandling. Forskningsinstitut for Human Ernæring/Levnedsmiddelcenteret, Den Kongelige Veterinær- og Landbohøjskole, København 1995.
8. Mykænen HM, Wasserman RH. Enhanced absorption of calcium by casein phosphopeptides in rachitis and normal chicks. *J Nutr* 1980;110:2141-8.
9. Harzer G, Kauer H. Binding of zinc to casein. *Am J Clin Nutr* 1982;35:981-7.
10. Lönnerdal B. Trace element binding ligands in human milk: function in trace element utilization. In: Goldman AS, Atkinson SA, Hansson LA (eds). Human lactation 3. The effects of human milk on the recipient infant. New York, Plenum Press, 1987:61-70.
11. Hallberg L, Brune M, Erlandsson M, Sandberg AS, Rossander-Hultén L. Calcium: effect of different amounts on non-heme and heme-iron absorption in humans. *Am J Clin Nutr* 1991;53:112-9.
12. Nordisk Ministerråd. Addition of nutrients to food – principles and practices. København, TemaNord 1995:643.
13. Halleux C, Schneider YJ. Iron absorption by Caco-2 cells cultivated in serum-free medium as in vitro model of human intestinal epithelial barrier. *J Cell Physiol* 1994;158:17-28.
14. Glahn RP, Wien EM, Van Campen DR, Miller DD. Caco-2 cell iron uptake from meat and casein digests parallels in vivo studies: use of a in vitro method for rapid estimation of iron availability. *J Nutr* 1996;126:332-9.
15. Sørensen SB, Lund EK, Bukhave K, Hansen M, Pariagh S, Fairweather-Tait SJ, Sandström B. A three tier system for absorption studies in Caco-2 cells. The effect of lactic acid on iron absorption from rye bread following *in vitro* digestion. *Ann Nutr Metab* 2003;47:469.

Publikationer og offentliggørelser

1. Artikler i/til internationale tidsskrifter:

Grinder-Pedersen L, Bukhave K, Jensen M, Højgaard L, Hansen M. Calcium from milk or calcium fortified foods does not inhibit nonheme-iron absorption from a whole diet consumed over a 4-day period. *Am J Clin Nutr* 2004;80:404-9.

Carbonaro M, Petersen M, Bukhave K. A proteomic approach for monitoring bioavailability of food proteins: gastrointestinal digestion pattern of caseins. *Proteomics* 2004: submitted.

Grinder-Pedersen L, Zangenberg M, Marving J, Hansen M, Bukhave K. No effects of casein phosphopeptides on calcium absorption from an infant cereal low in phytic acid. Manuscript in preparation.

Grinder-Pedersen L, Bukhave K, Jensen M, Sørensen ES, Marving J, Hansen M. Milk mineral isolates are not superior to CaCO₃ for calcium fortification of bread. A study in pre- and postmenopausal women. Manuscript in preparation.

2. Indlæg ved faglige kongresser, symposier o.l.

Grinder-Pedersen L, Jensen M, Sørensen ES, Sandström B, Højgaard L, Hansen M. Calcium absorption from bread fortified with a milk mineral isolate in pre- and postmenopausal women. *11th Symposium on Trace Elements in Man and Animal*. Berkeley, California, USA, June 2002.

Carbonaro M, Søndergaard I, Bukhave K. Proteomics applied to bioavailability studies: traceability of in vivo gastrointestinal pattern of milk proteins. *New Functional Ingredients and Foods Conference*. Copenhagen, Denmark, April 2003.

Grinder-Pedersen L, Hansen M, Jensen M, Højgaard L, Bukhave K. The effect of milk on iron absorption from a whole diet. *Ann Nutr Metab* 2003;47:470.

Grinder-Pedersen L, Jensen M, Sørensen ES, Sandström B, Højgaard L, Hansen M, Bukhave K. Absorption of calcium from bread meals fortified with milk mineral isolates in pre- and postmenopausal women. *Ann Nutr Metab* 2003;47:610.

Grinder-Pedersen L. The effect of milk on iron absorption from a whole diet. *Food Congress 2004*. DTU, March 17.-18.

Forskeruddannelse

Der var ingen forskeruddannelse tilknyttet projektet.

Samarbejdsrelationer

Dr. Marina Carbonaro

Institute Nazionale di Ricerca per gli Alimenti e la Nutrizione

Roma, Italia

