

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

PERSPECTIVAS AGROINDUSTRIALES ACTUALES DE LOS OLIGOFRUCTOSACÁRIDOS (FOS)¹

Alejandro Chacón-Villalobos²

RESUMEN

Perspectivas agroindustriales actuales de los oligofruetosacáridos (FOS). Los oligofruetosacáridos representan una importante tendencia agroindustrial por sus aplicaciones técnicas, productivas y nutricionales. Este trabajo abordó los principales aspectos asociados con los oligofruetosacáridos desde el punto de vista de sus características químicas, biosíntesis, métodos de análisis, fuentes vegetales y microbianas, métodos de obtención y aspectos nutricionales (rol como fibra dietética). Aplicaciones industriales prácticas de estos carbohidratos son también discutidas, entre ellas su capacidad como sustituto de la grasa, estabilizante y mejorador de textura.

Palabras clave: Oligofruetosacáridos, fructanos tipo inulina, oligosacáridos no digestibles, valor nutricional, procesamiento.

ABSTRACT

Actual agroindustrial prospects of Oligofruetosaccharides (FOS). Oligofruetosaccharides represent a growing agro-industrial trend because of their technical, productive and nutritional applications. This paper overviews the principal facts associated with the oligofruetosaccharides from the point of view of their chemical properties, biosynthesis, analytical methods for their analysis, sources (vegetables and microorganisms), extraction techniques, and nutritional properties (as dietary fiber). Practical agro-industrial applications of these carbohydrates are also discussed. Among them, their potential as fat substitutes and as texture agents and stabilizers deserves to be cited.

Key words: Oligofruetosaccharides, inulin-type fructans, non-digestible oligosaccharides, fructooligosaccharides, nutritional value, processing.



INTRODUCCIÓN

Los oligofruetosacáridos, oligofruetos, glucofructosanos, inulinos, oligosacáridos resistentes o simplemente FOS (Hogarth *et al.* 2000), son carbohidratos principalmente compuestos por la fructosa y algunos escasos residuos de glucosa (Yun 2003).

No obstante, a diferencia del término glucanos, los fructanos envuelven no sólo a las moléculas de alto peso molecular, sino que se cobija bajo esta definición a las moléculas de bajo peso molecular, las cuales

suelen estar íntimamente asociadas a las primeras (Suzuki y Chatterton 1996). El espectro es muy amplio e involucra muchos polisacáridos de muy diversa naturaleza. Las estructuras químicas de algunos FOS de interés se representan en la Figura 1.

Cuando un oligofruetosacárido presenta de manera predominante o incluso exclusiva la unión β -(2 \rightarrow 1) fructosil-fructosa (“enlace inulina”), recibe el nombre genérico de inulina (derivado de la planta *Inula helianium*) (Suzuki y Chatterton 1996). Debido a que la configuración de las cadenas de inulina es primordial-

¹ Recibido: 28 de noviembre, 2005. Aceptado: 17 de julio, 2006.

² Estación Experimental Alfredo Volio Mata. Facultad de Ciencias Agroalimentarias. Universidad de Costa Rica. Correo electrónico: achaconv@cariari.ucr.ac.cr

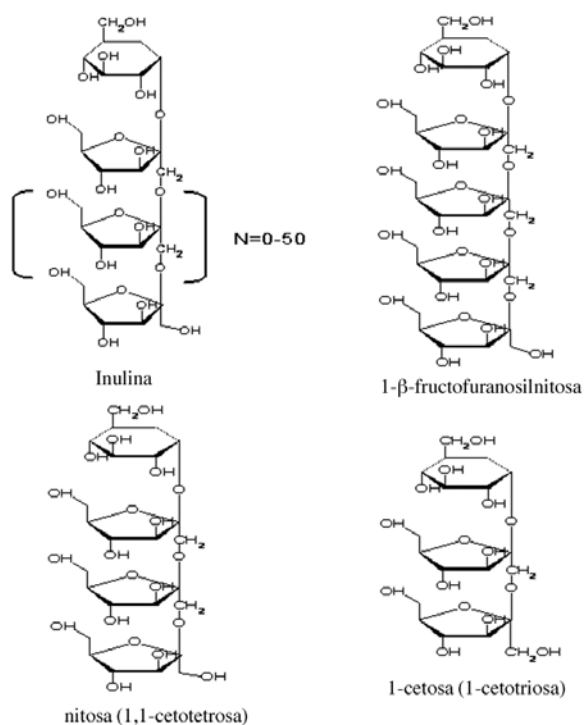


Figura 1. Estructuras generalizadas de algunos oligofructosacáridos. San José, Costa Rica. 2005.

mente lineal, éstas suelen ser de muy alta solubilidad (Hellwege *et al.* 2000). Esta estructura está compuesta esencialmente de unidades 2-1-β-fructosa con un grado de polimerización de entre 3 y 70 monómeros (Murphy 2001; Australian New Zealand Food Authority 2001). Se habla entonces de una serie de β-D-fructofuranosas unidas por enlaces β-(2→1). La primera unidad de la cadena (extremo no reductor) puede ser un grupo β-D-glucopiranosil o bien β-D-fructopiranosil (American Association Of Cereal Chemists 2001; Roberfroid 2001). La fórmula estructural generalizada de la inulina puede observarse en la Figura 1.

La inulina constituye una mezcla polidispersa muy heterogénea de carbohidratos y polímeros (Coussement 1995; Perrin *et al.* 2001; Australian New Zealand Food Authority 2001), que tienen la misma estructura química básica (Murphy 2001). La inulina extraída de plantas por lo general contiene hasta un 10% de mono y disacáridos (principalmente sucrosa y fructosa), y una serie de oligosacáridos, donde se incluyen los FOS denominados fructanos, con un grado

de polimerización de 10 ó menos unidades, y que constituyen un 30% del total (Niness 1999). Estos últimos de hecho constituyen oligosacáridos más simples obtenidos a partir de la hidrólisis enzimática parcial de la inulina (Coussement 1995; Roberfroid 2001; Roberfroid 2002). En términos comerciales y científicos, aquel producto natural con un grado de polimerización de entre 2 a 70 unidades se denomina inulina, mientras que el término fructano se reserva sólo para preparados, ya sea por vía hidrolítica enzimática de la inulina, con grados de polimerización menores a 10 unidades (Loo *et al.* 1999), o por síntesis enzimática a partir de la sucrosa con idéntico grado de polimerización (Durieux *et al.* 2001).

Los FOS conocidos como fructanos, son compuestos cuya estructura se encuentra formada por unidades repetitivas de disacáridos tales como la sucrosa, la inulobiosa y la levanobiosa. La unión de grupos fructosilos a la sucrosa en diferentes posiciones genera cetosas, las cuales son el fundamento de todos los fructanos naturales (Suzuki y Chatterton 1996). Los fructanos son fructosilpolímeros que consisten en cadenas lineales de D-fructosa (aunque se pueden observar diferentes grados de ramificación según la complejidad), unidas a la fructosa por un enlace β-(2→1) y que usualmente tienen una molécula de D-glucosa terminal unida a una fructosa por un enlace α-(2→1) (Delaquis y Mazza 1998; Hogarth *et al.* 2000; Perrin *et al.* 2001; Utha State University 2003). La naturaleza de estos enlaces tiene importantes implicaciones bioquímicas que se asocian a una marcada indigestibilidad de los mismos cuando son consumidos por seres humanos (Perrin *et al.* 2001). Si bien los fructanos de origen natural se presentan en la forma de simples polímeros de fructosa que en algunas ocasiones presentan unidades terminales de glucosa; en el caso de las moléculas sintéticas de fructanos siempre existe una glucosa terminal (Perrin *et al.* 2001).

La definición de los fructanos no está limitada por el peso molecular, pues no excluye a aquellas moléculas que tienen un grado de polimerización menor a 10 monómeros, incluyéndose en esta definición al dímero inulobiosa (Suzuki y Chatterton 1996; Australian New Zealand Food Authority 2001). Generalmente en la naturaleza el grado de polimerización varía entre 2 y 70 unidades. En promedio, no obstante la cifra más común de polimerización es de 10 unidades (Perrin *et al.* 2001).

Las moléculas de fructanos también pueden presentar monómeros de glucosa en su estructura; en estos casos, los fructanos pueden ser considerados complejos resultantes de la combinación y polimerización de tres azúcares (Wang y Park 1997; Hogarth *et al.* 2000; Otero 2003): 1-cetosa (1-cetotriosa), nitosa (1,1-cetotetrosa), y la 1- β -fructofuranosilnitosa. Existe también una cuarta estructura, un pentafructano, la cual no ha sido aún caracterizada (Wang y Park 1997).

La estructura química de los fructanos es tal que los hace solubles en agua, lo cual tiene importantes implicaciones biológicas a nivel de la dinámica celular de las plantas. Son almacenados preferiblemente en vacuolas donde es posible que posea otras funciones para la planta como la tolerancia al frío y a las sequías (Utha State University 2003).

En muchas plantas monocotiledóneas existe un grupo de fructanos que son también lineales, pero presentan uniones entre las unidades de fructosa que son predominantemente del tipo β (2 \rightarrow 6) o incluso β (2 \rightarrow 1) en los casos mixtos. Estos tipos de fructanos reciben el nombre de levanos (Suzuki y Chatterton 1996). El nombre les viene de la rotación "levo" que tienen los hidrolizados resultantes. Los levanos de las plantas superiores suelen ser polisacáridos de cadena relativamente corta. No obstante que pueden existir residuos de glucosa, los levanos suelen ser primordialmente polímeros de fructosa (Suzuki y Chatterton 1996). Los levanos también suelen ser sintetizados por bacterias, pero en este caso su grado de polimerización suele ser sumamente elevado (Suzuki y Chatterton 1996).

Un tipo adicional de fructanos presenta la característica de contar con ambos tipos de enlaces, es decir β (2 \rightarrow 6) y β (2 \rightarrow 1), presentando en consecuencia una estructura ramificada. Estos fructanos son comunes en pastos y cereales, por lo cual se denominan graminianos. No obstante que pueden existir residuos de glucosa, los levanos suelen ser primordialmente polímeros de fructosa (Suzuki y Chatterton 1996).

Bioquímica de los oligofructanos:

Biosíntesis y degradación

La sucrosa es el precursor de los fructanos sintetizados en las plantas durante la fotosíntesis. La

sucrosa se almacena en su forma natural en la planta hasta que las concentraciones son altas, siendo entonces que se inicia la biosíntesis de los fructanos que suelen acumularse en las hojas y vacuolas (Longland 2003). La síntesis y acumulación de los oligofructanos se cree es extracloroplástica y ocurre en las vacuolas (Cairns 2002; Utha State University 2003).

La biosíntesis de fructanos se rige por mecanismos muy particulares y complejos según sea la fuente vegetal, microbiana o fúngica (Utha State University 2003), aunque por lo general consiste en una transfructosilación, es decir una transferencia de residuos terminales fructosilos hacia una sucrosa (Yun 2003).

Las enzimas causantes de la elongación de las cadenas en los oligofructosacáridos, ya sean de origen vegetal o microbiano (Yun 2003), son denominadas por algunos autores como β -D-fructofuranosidasas mientras otros prefieren denominarlas fructosiltransferasas (Yun 2003; Vergauwen *et al.* 2003).

Las bacterias y algunos hongos producen extracelularmente levanos que pueden alcanzar grados de polimerización de 100.000 o más unidades de fructosa; emplean para ello una sola β -D-fructofuranosidasa (levanucrasa) la que, dada su alta especificidad transfieren selectivamente un fructosilo de la sucrosa a la posición 1-OH de otra sucrosa formando así fructanos basados en la 1-cetosa (Vijn y Smeekens 1999; Yun 2003).

Muchas plantas, como la achicoria (*Cichorium intybus*) y la alcachofa (*Cynara scolymus*), tienen enzimas complejas que no se rigen por una simple cinética de Michaelis-Menten y cuya actividad depende de la concentración de sustrato y de enzima (Vijn y Smeekens 1999): 1-fructosiltransferasa (1-SST), β -fructan-1-fructosiltransferasa (1-FFT), 6G-fructosiltransferasa (6G-FFT) y 6-fructosiltransferasa (6-SFT).

Al principio la 1-SST convierte la sucrosa en glucosa y un oligofructósido, polimerizando luego hasta el tercer monómero de fructosa, dejando que la 1-FFT forme a partir de allí los polímeros de mayor peso molecular. El tamaño de los polímeros generados depende entonces principalmente de la actividad enzimática de la 1-FFT (Utha State University 2003; Yun 2003). El modelo postula que la 1-SST cataliza la síntesis del trisacárido 1-cetosa a partir de dos moléculas de sucrosa al transferir un residuo fructosilo de una molécula de

sucrosa a otra, liberándose lógicamente glucosa (Vijn y Smeekens 1999). A continuación la 1-FFT transfiere de modo reversible un fructosilo de un fructano con un grado de polimerización mayor o igual a tres a otro fructano generando así inulina. Esto produce una mezcla muy heterogénea de fructanos característica de los vegetales, y que no es vista en los levanos microbianos (Hellwege *et al.* 2000). Tal y como describen Vijn y Smeekens (1999), a partir de la 1-cetosa y sucrosa, la enzima 6G-FFT puede producir neocetosa y la enzima 6-SFT puede producir bifurcosa, producto que puede ser elongado por la 1-FFT en la forma antes descrita para generar oligofructanos ramificados. Si el único sustrato disponible es la sucrosa la enzima 6-SFT puede generar levanos a partir de ella.

Para la síntesis no natural, se prefiere el uso de extractos enzimáticos de hongos, especialmente *Aspergillus niger* y *Aspergillus phoenicis*, pues la producción con enzimas vegetales suele ofrecer menores rendimientos (Yun 2003). La fructosiltransferasa de los *Aspergillus* antes citados tiene la capacidad de ofrecer porcentajes de conversión de entre 55% y 60% (Yun 2003).

En términos generales, las β -D-fructofuranosidas derivadas de microorganismos son de mayores tamaños y más resistentes a la temperatura que aquellas de origen vegetal, actúan a un pH mínimo que se encuentra entre 5 y 6,5, además su temperatura óptima es aproximadamente de 45 °C; también se estima que estas enzimas tienen un punto isoelectrónico que ronda el pH de 4,7 (Utha State University 2003); estas β -D-fructofuranosidas suelen necesitar para su activación y funcionamiento de iones: Ca, Mg, Co y Li; además de altas concentraciones de sucrosa. Además las β -D-fructofuranosidas pueden ser inhibidas por muchos minerales como: Pb, Hg, Al y Ag, así como por altas concentraciones de glucosa. Generalmente estas enzimas tienen una actividad específica de 1,260 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ y pesos moleculares de aproximadamente 69-77 kDa (Ende *et al.* 1996; Utha State University 2003).

La forma en que se suelen obtener estas enzimas es por precipitación en sulfato de amonio y depuración por cromatografía de intercambio iónico (Luscher *et al.* 1993; Ende *et al.* 1996).

Los fructanos pueden ser degradados por igual diversidad de enzimas que las que involucran su síntesis.

La ruptura de las inulinas por lo general se lleva a cabo por medio de una hidrólisis ejecutada por fructano-exo-hidrolasas (exoinulasas y exolevanasas como la 2,1- β -D-fructanohidrolasa y la β -D-fructofuranosil-fructohidrolasa por ejemplo) que rompe los enlaces β (2 \rightarrow 1), liberando fructosa y polisacáridos de cadena corta (Fuchs 1987; Suzuki y Chatterton 1996; Utha State University 2003). Generalmente estas enzimas tienen pesos moleculares que van de 54.000 a 64.000 Da, un rango óptimo de temperatura que va de 45 °C a 55 °C y un ámbito de pH óptimo que varía desde 5,3 a la neutralidad (Suzuki y Chatterton 1996).

Aunque las enzimas relacionadas con la degradación de los fructanos se encuentran ampliamente distribuidas en plantas y organismos, sus mecanismos de acción permanecen aún sin ser identificados plenamente (Suzuki y Chatterton 1996).

Recientemente, la capacidad de clonar los genes que codifican las fructosiltransferasas ha sido un gran avance en los estudios de los fructanos, y coloca la industria a las puertas de poder generar moléculas de estructura química previamente definida y por lo tanto de un efecto técnico y nutricional más expedito (Tita y Smeekens 2003).

Al ser consumidos, los fructanos no son hidrolizados en el tracto digestivo dada la ausencia tanto de exoinulasa como de exolevanasas, sufriendo posteriormente por ello una fermentación en el colon. Químicamente, pueden hidrolizarse los fructanos por calentamiento en una disolución de ácido oxálico (Suzuki y Chatterton 1996).

Propiedades fisicoquímicas básicas

Los oligofructanos presentan una serie de características químicas muy particulares. Como se expuso con anterioridad los pesos moleculares de los fructanos son muy variables según la fuente, pero en términos generales oscilan en el intervalo entre 1.000 y 4.500 Da (Losso y Hakai 1997).

Los fructanos y principalmente la inulina, tienen en su estructura enlaces del tipo β (2 \rightarrow 1) responsables de que los fructanos no sean digestibles como lo sería cualquier carbohidrato típico, lo que a su vez tiene como consecuencia que tengan un bajo valor calórico y

propiedades humectantes cuando se emplean como aditivos en la industria de alimentos, así como la capacidad de formar geles cremosos cuando se calientan en medios acuosos (Pujato 2002). La viscosidad de las disoluciones de fructanos son generalmente más altas que las de los demás carbohidratos a la misma concentración y suelen ser de mayor estabilidad térmica (Yun 2003).

Los fructanos poseen un sabor neutral y ligeramente dulce. Así por ejemplo, para los fructanos de más bajo peso molecular como los detallados en la Figura 1, pueden tenerse dulzores relativos del 10% de la sucrosa, así como rotaciones ópticas específicas de +28,5 (Yun 2003).

Como cualquier carbohidrato es fácilmente hidrolizado por acción de ácidos o enzimas, la oligofruktosa comercial es de hecho obtenida por medio de una hidrólisis parcial de la inulina cruda (Pujato 2002). Los fructanos suelen ser muy estables a los rangos de pH encontrados en la mayoría de los alimentos (pH entre cuatro y siete) así como estables a la refrigeración (Yun, 2003).

Los oligofruktanos son incoloros e inodoros y son estables hasta temperaturas cercanas a los 140 °C (Suzuki y Chatterton 1996). Algunas fracciones de oligofruktanos pueden tener capacidades reductoras (Gennaro *et al.* 2000).

Métodos de análisis y cuantificación

El método oficial para la detección y cuantificación de oligofruktanos es el método 997.08 de la AOAC el cual es útil para cualquier alimento y ha demostrado ser muy confiable y exacto (Coussement 1999). Este método está basado en una cromatografía de intercambio iónico de alta resolución medida con una detección electrónica (Steegmans *et al.* 2004). El método cromatográfico de intercambio iónico consiste en disolver la muestra en agua caliente para separar la fracción soluble que incluye los fructanos, seguido de una filtración centrífuga para 10.000 Da. Las muestras filtradas se someten ahora a un cromatógrafo de intercambio iónico cuyo gradiente de elusión se encuentra programado, comparándose luego las áreas y los picos obtenidos con patrones estandarizados en una curva de calibración. Es posible emplear un detector del tipo PED (Detector de Emisión de plasma o Emisión Atómica) (Hogarth *et al.* 2000).

No obstante este no es el único método de detección y cuantificación al que se puede recurrir, siendo posible emplear cromatografía HPLC o cromatografía de intercambio iónico (Dyssel *et al.* 1999). La cromatografía HPLC es muy útil especialmente en la determinación de la composición molecular de los fructanos (Utha State University 2003). La muestra se extrae en agua y después de sufrir una metilación se somete a la cromatografía (Dyssel *et al.* 1999).

La determinación puede ser también espectrofotométrica (Steegmans *et al.* 2004), correspondiendo al método 999.03 de AOAC (McCleary y Rossiter 2004). En este caso se extrae la muestra con agua caliente y se trata con un combinado de enzimas que incluye una sucrasa para destruir la sucrosa presente; además de α -amilasa, maltasa y fructosa. Estas destruyen todos los carbohidratos presentes menos los fructanos. Los azúcares reductores resultantes se reducen a alcoholes por medio de una disolución alcalina cuyo exceso se neutraliza con ácido acético diluido. El fructano después de purificado y libre de otros polisacáridos, se hidroliza con una mezcla de exo y endo inulasas. Los azúcares reductores derivados de este tratamiento se hacen reaccionar con ácido para-hidroxibenzoico y con hidracina generándose un compuesto coloreado que puede medirse espectrofotométricamente (MacCleary *et al.* 2000).

El método puede ser también enzimático (Utha State University 2003). La inulina se purifica de las formas antes expuestas y posteriormente se hidroliza con un coctel de inulasas. La fructosa resultante se fosforila empleando adenosina-5-trifosfato y hexoquinasa, siendo isomerizada a glucosa-6-fosfato empleando fosfoglucoisomerasa. La glucosa-6-fosfato es finalmente oxidada a gluconato empleando glucosa-6-fosfatodeshidrogenasa. El NADP formado en este proceso puede determinarse espectrofotométricamente a 340 nm, y asociarse estequiométricamente con la cantidad de fructanos inicial dado que la absorbancia es directamente proporcional al contenido de fructanos (Hofer y Jenewein 1999).

Fuentes de los oligofruktanos

Los oligofruktanos, y más explícitamente las inulinas, son compuestos orgánicos fundamentalmente de origen vegetal encontrados comúnmente en nuestra dieta desde tiempos inmemoriales (American Association Of Cereal Chemists 2001), aunque como se

mencionó con anterioridad también se conocen inulinas muy específicas de origen bacteriano y hasta fúngico (Fuchs 1987). Contrario a lo que a veces se afirma, los fructanos no se encuentran en la leche (European Commission 2001).

Microorganismos y hongos

En el caso de las bacterias, los fructanos son elaborados como polisacáridos extracelulares y son siempre levanos con pesos moleculares que oscilan entre 10^7 y 5×10^7 Da, y con niveles de polimerización mayores en dos o tres grados de magnitud en comparación con los fructanos vegetales (Fuchs 1987; Cairns 2002).

En el caso de los fructanos de origen fúngico estos alcanzan bajos grados de polimerización que van de dos a cuatro unidades de monómeros (Australian New Zealand Food Authority 2001). Artificialmente los fructanos pueden ser sintetizados a partir de la sucrosa gracias a la acción de la enzima fructofuranosidasa que se extrae de los hongos (Loo *et al.* 1999).

Microorganismos como *Aureobasidium* sp., *Candida* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp., *Aspergillus niger*, y ciertos bacilos que contengan la enzima levano-sucrasa, son reconocidos por presentar una alta capacidad de formar fructanos gracias a la alta actividad de la enzima β -fructofuranosidasa (Utha State University 2003; Yun 2003).

Vegetales

Hasta 36.000 especies diferentes de plantas contienen entre sus carbohidratos de reserva a diversos tipos de oligofructanos (Niness 1999; Deis 2001). En algunas de estas plantas el contenido de fructanos puede llegar a constituir hasta el 24% de la masa cruda (Utha State University 2003).

Las principales familias de plantas que incluyen a los fructanos en su composición son la Liliaceae, Amaryllidaceae, Gramineae, Poaceae, Solanaceae y Compositae (Marquina y Santos 2003).

Es común encontrar oligofructanos en alimentos tales como el trigo, que de hecho es la principal fuente nutricional de los mismos en los Estados Unidos (Flickinger y Fahey 2002; Deis 2001). Las gramíneas en general pueden tener contenidos de oligofructanos

que rondan entre 0,38 g/100g y 0,96 g/100g (Hogarth *et al.* 2000). Es además significativa la cantidad de fructanos presentes en alimentos tales como: ajo (*Allium sativum* L.), cebolla (*Allium cepa* L.) (Niness 1999; Deis 2001), cebada (*Hordeum distichum*, *Hordeum tetrastichum*, *Hordeum hexastichum*), maní (*Arachis hypogaea* L.), tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill), espárrago (*Asparagus officinalis* L.), puerro (*Allium porrum* L.) (Flickinger y Fahey 2002), y hasta las bananas (*Musa* sp.) (Anónimo 1994; Australian New Zealand Food Authority 2001; Pujato 2002). En estos alimentos los fructanos aportan valores energéticos entre 1 y 1,5 kcal/g (Anónimo 1994).

No obstante, si de cantidades se trata, las principales fuentes de oligofructanos son la achicoria (*Cichorium intybus*), alcachofa (*Cynara scolymus*), alcachofa de Jerusalén conocida también como topinambur (*Helianthus tuberosus*), alcachofa globo (*Cynara cardunculus*), yacón (*Smallanthus sonchifolius*) y dalia (*Dahlia pinnata* Cav.) (Fletcher 1999; Hellwege *et al.* 2000; Flickinger y Fahey 2002; Deis 2001; Utha State University 2003; López *et al.* 2005). La inulina proveniente de la achicoria es la única que brinda la mejor opción en cuanto a cantidad y calidad como para pensar en la industrialización del producto (Coussement 1999; Niness 1999). Generalmente en estas plantas, los fructanos producidos son de muy bajo peso molecular y bajo grado de polimerización (Hellwege *et al.* 2000).

La achicoria, escarola o endibia como también se le conoce, es una hierba perenne originaria de la zona mediterránea. Fue usada en ensaladas desde tiempos antiguos por los romanos y egipcios. Es actualmente la principal fuente de fructanos y se le cultiva principalmente en Holanda, Francia y Bélgica (Monti *et al.* 2005).

De la achicoria se obtiene el polisacárido complejo α -D-glucopyranosil-(β -D-fructofuranosyl)- β -D-fructofuranósido con un número de polimerización de entre 2 y 70 unidades (Marquina y Santos 2003). La oligofructosa derivada de la achicoria contiene tanto cadenas simples de fructosa, como cadenas de fructosa con glucosas terminales (Niness 1999).

Se estima que la raíz de la achicoria, de dónde se obtiene primordialmente la inulina, contiene hasta un 17%-30% de fructanos de los cuales entre un 8% y un 14% son inulinas con grados de polimerización no mayores a 60 unidades (Roberfroid *et al.* 1998; Australian New Zealand Food Authority 2001; Utha State

University 2003). No obstante, la funcionalidad de estos fructanos puede ser limitada debido a la degradación de las cadenas largas antes mencionadas debido a la acción poscosecha de las enzimas hidrolasas (Vijn y Smeekens 1999).

Los oligofructosacáridos de la achicoria generalmente se obtienen después de ejecutar un secado cuyas condiciones óptimas, según lo enunciado por Manrique *et al.* (2005), son de un pH inicial de 6,5 así como de una temperatura no superior a 140 °C aplicada por un tiempo menor a los 50 minutos.

El yacón es un tubérculo originario de la región andina suramericana cuyas raíces contienen cantidades considerables de oligofructanos (Utha State University 2003). Es una hierba perenne capaz de crecer hasta tres metros de alto, y que posee un sistema de raíces tuberculosas que llegan a alcanzar una longitud de 10 cm a 25 cm de diámetro. Estas raíces acumulan una gran diversidad de azúcares variables significativamente en cantidad según el ecotipo, y entre los que se encuentran: la fructosa, glucosa, sucrosa, trazas de almidón y oligosacáridos varios. Estos fructanos presentan un grado de polimerización de 3 a 10 unidades (Douglas *et al.* 2002/2003), y representan un 67% de la materia seca total de la raíz (Fletcher 1999; Lachman *et al.* 2004). Además están presentes pequeñas cantidades de vitaminas, minerales y otras fibras (Fletcher 1999).

En los países andinos es consumido incluso en su forma cruda después de secarlos al sol y como si fuese una fruta, dado su sabor dulce y su textura crujiente (Fletcher 1999), comparable con la pera. No obstante se estima que la cantidad de fructanos se ve significativamente disminuida por el tratamiento solar dada su conversión a fructosa, por lo cual es más recomendable el uso de otras técnicas alternativas de secado o de consumo (Carvalho *et al.* 2004).

Las alcachofas son también plantas tuberculosas que tienen rendimientos de cinco hasta siete toneladas por acre y que generalmente se desarrollan bien en todo tipo de suelos excepto aquellos muy arcillosos (Raccuia *et al.* 2004). Todo el contenido de material de reserva de las alcachofas se encuentra no en forma de almidón si no en forma de inulina cuyos contenidos son variables según la región y la modalidad de cultivo (Schultheis 1999). El principal componente de la inulina de la alcachofa es la fructosa, soliendo diferenciarse de la inulina de la alcachofa de Jerusalén por presentar un mayor grado de polimerización (10 a 46 unidades) (Douglas *et al.* 2002/2003; López *et al.*

2005). En la alcachofa globo la inulina suele representar alrededor del 89,4% de los azúcares totales (Raccuia *et al.* 2004). El grado de polimerización en las alcachofas suele encontrarse por lo general vinculado con las temperaturas de almacenamiento poscosecha, favoreciéndose por ejemplo en la alcachofa de Jerusalén la aparición de bajos grados de polimerización (3 a 10 unidades) cuando el almacenamiento se efectúa a temperaturas mayores a los 5 °C (Saengthongpinit y Sajjaanantakul 2005).

Actualmente se investiga el potencial de la Dalia como fuente de inulina. Esta es una planta de raíces carnosas usualmente empleada en floristería y originaria de los valles arcillosos ricos en silicio de México (Infoagro 2004). Es capaz de rendir hasta 2,5 toneladas de masa total por hectárea en comparación con la alcachofa que produce 0,9 toneladas por hectárea y la alcachofa de Jerusalén que produce 4,5 toneladas por hectárea (Utha State University 2003).

La dalia puede ser capaz de acumular hasta un 80% de su masa seca en forma de fructanos, siendo los principales campos de cultivo Holanda y Francia (Infoagro 2004).

Los oligofructosacáridos se extraen de los vegetales por simple molienda y solubilización en agua caliente. Posteriormente se trata el extracto con una mezcla de enzimas que incluye entre otras una sucrasa para destruir la sucrosa presente, α -amilasa y maltasa de modo que éstas degraden todos los carbohidratos presentes menos los fructanos. Los azúcares resultantes se eliminan por lavado con etanol al 80% o bien a través de elusión por una columna de intercambio iónico (Suzuki y Chatterton 1996). La inulina ahora obtenida se trata con una exoinulasa purificada o inmovilizada (preferentemente la de *Aspergillus*) si se desea transformarla en fructanos de menor masa molecular y bajo grado de polimerización (cinco monómeros) (Marquina y Santos 2003; Utha State University 2003). La hidrólisis enzimática se prefiere por sobre la ácida dados los mejores rendimientos y menores subproductos no deseados (Fuchs 1987). La concentración de producto final se logra por evaporación, principalmente empleando secadores de aspersión (Murphy 2001).

Síntesis enzimática

Muchos de los oligofructanos comercialmente disponibles en la industria de los aditivos son generados empleando a la sucrosa como sustrato en una

síntesis enzimática (Ninnes 1999). En la actualidad los grandes avances en enzimología industrial, han hecho que las metodologías enzimáticas sean las más aplicables en la obtención de fructanos a gran escala.

El primer paso en la producción enzimática de oligofructanos es la obtención e inmovilización de una fructosiltransferasa que ejecute el paso biosintético. La producción de dicha enzima se logra extrayéndola de cultivos aeróbicos sumergidos de ciertos hongos productores de la enzima, especialmente *Aureobasidium* sp. (Yun 2003). Aunque lógicamente las condiciones de crecimiento varían de un microorganismo a otro, suele ser recomendado para los géneros de interés una temperatura de 30 °C a un pH cercano a 5,5. Los microorganismos en cuestión se cultivan en presencia de una fuente de carbono como la sucrosa (20%), y con una buena suplementación con sales de magnesio para generar mejores crecimientos y tasas de generación de la enzima, alcanzándose así un máximo de producción después de completada la fase exponencial de crecimiento (Yun 2003). Obtenida la biomasa de los microorganismos, ésta se depura por medio de centrifugación. Las fructosiltransferasas se obtienen por la acción de la enzima lisozima sobre los tejidos, o si se prefiere los microorganismos completos son inmovilizados para servir en la producción de los fructanos (Yun 2003).

Dos formas posteriores de proceso pueden ser claramente distinguidas. Una primera es la producción en lotes de los fructanos empleando la enzima extraída y solubilizada en el medio de reacción, y la otra un proceso continuo empleando enzima o microorganismos inmovilizados principalmente en geles de alginato de calcio. Los reactores de cama empacada de 1 m³ son los más recomendables para la reacción, en los cuales la estabilidad de los inmovilizados puede llegar a ser hasta de 3 meses, especialmente en el caso de los microorganismos inmovilizados (Yun 2003). La temperatura óptima suele ser cercana a 60 °C para un pH de 5,0 y bajas velocidades de flujo de sustrato (Utha State University 2003). La sucrosa se usa como sustrato para la acción enzimática y se emplea en concentraciones que van desde 600 g/l hasta 850 g/l tanto para los procesos de lotes como para los continuos. Desde un punto de vista práctico, el procesamiento en batch con el extracto enzimático requiere de un paso adicional que consiste en remover la enzima residual contenida en los productos de reacción, aspecto en el cual la producción continua es más favorable.

Tanto del proceso continuo como del de lotes, se extrae un "jarabe" de oligofructanos, el cual suele ser

llevado por evaporación hasta una concentración comercial de 800 g/l, incluyendo frecuentemente un purificado a través de columnas de intercambio iónico donde experimentan una desalinización y una decoloración (Suzuki y Chatterton 1996). Como etapa final se procede a un proceso de esterilización que usualmente es concretado por medio de radiación ultravioleta dado que esterilizaciones térmicas pueden generar pardeamientos.

Aspectos nutricionales y funcionales de los oligofructosacáridos

Fermentación, funcionalidad como fibra dietética y efecto prebiótico

Tanto la inulina, que por lo general contiene cantidades traza de sales y minerales ($\leq 0,2\%$), como los fructanos en general, se encuentran ampliamente presentes en la dieta de la mayoría de la población mundial al punto que la ingesta suele ser de varios gramos diarios (Coussement 1999). Se ha estimado que la población de los Estados Unidos de América consume en promedio de 1 a 4 g de fructanos al día mientras que los europeos ingieren entre 3-10 g diarios (Moshfegh *et al.* 1999; Ninnes 1999). Generalmente se recomienda al menos una ingesta de 8 g de oligofructanos en la dieta de modo que sus múltiples funcionalidades nutricionales sean manifiestas en el organismo y no se presenten problemas de intolerancia (Gibson *et al.* 1995; Lendorio 2003; Yun 2003).

El valor calórico de la inulina tiende a ubicarse en promedio en 1,6-2,71 kcal/g (Coussement 1999; Ninnes 1999; Deis 2001; Murphy 2001; Pujato 2002; Lendorio 2003), especialmente por la metabolización de los ácidos grasos de cadena corta que se producen a partir de ellos durante el proceso fermentativo que sufren los fructanos en el colon (Lendorio 2003). El índice glicémico de la inulina se estima es de cero (Deis 2001).

El colon humano constituye un complejo ecosistema que comprende hasta 50 especies diferentes de bacterias que constituyen una flora mayoritariamente anaeróbica estricta acompañada por cantidades menores de flora facultativa, cuya actividad y cantidad se ve afectada por la fisiología gastrointestinal y por los sustratos de fermentación con los que éstas dispongan. Usualmente las bacterias del tracto inicial del colon tienen más nutrientes que aquellas que crecen al final, por lo cual el pH del inicio del tracto suele ser más bajo que el del final, dada la mayor producción de ácidos

orgánicos derivados de la fermentación. Esto hace pensar que la fermentación se da primordialmente en el colon inicial o cercano (Mcbain *et al.* 1997). Los oligofructosacáridos pueden clasificarse como carbohidratos altamente fermentables (Tungland y Meyer 2002).

Los principales sustratos fermentativos para el crecimiento bacteriano antes descrito son los carbohidratos. De estos sólo entre 10 a 60 g por día logran llegar al colon, siendo la gran mayoría de estos fructanos (2 a 8 g por día). Los fructanos, dada su composición química (enlaces β (2-1) no son degradados a nivel de estómago ni de intestino delgado (Flamm *et al.* 2002; Cherbut 2002; Rosado y Ordanza 2003), siendo resistentes a la acción de las enzimas del intestino delgado y a las pancreáticas (Niness 1999; Lendorio 2003). Las bacterias gram negativas del colon logran sintetizar toda una serie de enzimas sacarolíticas que sí pueden metabolizar a los oligofructosacáridos (Delzenne *et al.* 2002), los cuales son fermentados anaeróbicamente especialmente si su grado de subdivisión es bajo (Rabe 1999). La cinética de fermentación está ligada entonces al grado de polimerización, ya que aquellas moléculas de más de 10 monómeros son fermentadas en el doble de tiempo que aquellas de menor tamaño (Roberfroid *et al.* 1998).

La fermentación trae como consecuencia una disminución en el pH, debido a los productos generados (ácidos carboxílicos, lactato y acetato) (Durieux *et al.* 2001; Lendorio 2003; Tokunaga 2004). La disminución en el pH provocada al fermentarse los fructanos presentes en los alimentos y darse una intensa generación de ácidos carboxílicos de cadena corta, da como resultado una alta tasa de mortalidad de patógenos intestinales sensibles a la acidificación disminuyendo paralelamente sus posibilidades de colonización y translocación (Gibson *et al.* 1995; Niness 1999; Murphy 2001; Butel *et al.* 2002a; Butel *et al.* 2002b); no obstante una sobreacidificación debida a altas concentraciones de ácidos orgánicos podría verse vinculada con una inducción de lesiones a la mucosa intestinal comprometiendo su función de barrera (Bruggencate 2004).

El proceso fermentativo es efectuado principalmente por bacterias lácticas y bifidobacterias, a diferencia de los clostridia, bacteroides y coliformes que no pueden metabolizar en esta forma a los fructanos, especialmente si son de cadena corta (Hopkins *et al.* 1998; Butel *et al.* 2002a). Estudios aún por profundizar sugieren una mayor eficiencia en la fermentación de las *Bifidobacterium* por sobre las demás bacterias

lácticas (Roberfroid 2001). Las bifidobacterias poseen β -fructofuranosidasa capaz de hidrolizar los enlaces β (2-1) y α (1-2), que les permite aprovechar directamente los fructanos, lo que indica una alta especificidad de las bifidobacterias por este sustrato (Roberfroid 1999; Perrin *et al.* 2001). De hecho se ha determinado que las *Bifidobacterium* prefieren a los fructanos por sobre a la glucosa como sustratos fermentativos (Wang y Park 1997).

Se ha estimado que una ingesta diaria de 15 g hace por definición que las bacterias lácticas y *Bifidobacterium* se transformen en la flora dominante del colon (Gibson *et al.* 1995). No obstante no es del todo conocido cuales cepas de las bacterias lácticas y *Bifidobacterium* son las responsables de la metabolización de fructanos en sus diferentes etapas (Kaplan y Hutkins 2000).

Las bifidobacterias constituyen hasta un 25 % de la flora del colon, y durante su competencia al fermentar los fructanos contribuyen a la disminución y hasta anulación de cepas patogénicas que son sensibles al medio ácido (Durieux *et al.* 2001; Lendorio 2003), entre las que se encuentran *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *S. aureus*, *E. coli*, *Clostridium perfringens*, *Campylobacter jejuni*, *Shigella*, *Veillonella* y *Clostridium difficile* (Perrin *et al.* 2001; Roberfroid 2001; Fuchs 1987). La prevención y reducción de los patógenos se da debido también a la producción de bacteriocinas y otros agentes antimicrobianos, la competencia por sitios de adhesión en las mucosas, la competencia por nutrientes y la producción de inhibidores como el lactato y el acetato (Gibson 2004). Lo anterior es especialmente importante en grupos de riesgo como inmunodepresos o ancianos; de los cuales, es este último grupo donde las poblaciones de *Bifidobacterium* suelen ser más reducidas (Bonout *et al.* 2004; Bartosch *et al.* 2005).

Los productos de la fermentación están constituidos por un 55% de ácidos grasos volátiles de cadena corta (ácido acético, ácido propiónico, ácido butírico), 10% de gases (CO_2 , CH_4 , H_2) y un 35% de biomasa bacteriana para un valor energético total de 1,0 a 1,5 kcal/g (Loo y Van Loo 1995; Murphy 2001; Lendorio 2003). La mayor parte de los ácidos grasos producidos son ampliamente absorbidos en la sangre desde donde son distribuidos al hígado y a los tejidos periféricos induciendo cambios en el metabolismo de las grasas y de la glucosa (Roberfroid 2001; Giacco *et al.* 2004). Estudios recientes indican que algunas de estas moléculas también cumplen papeles importantes como moduladores de vías metabólicas primordiales

(Roberfroid 1999). El butirato producido en la fermentación está asociado por ejemplo con la producción de mucinas, que son complejos de glicoproteínas que componen el gel que recubre el epitelio gastrointestinal. El proceso fermentativo y sus productos pueden ser relacionados entonces con un efecto beneficioso importante.

Los alimentos funcionales, también llamados nutraceuticos (Shah 2002), son todos aquellos que producen efectos beneficiosos a la salud, más allá de un simple aspecto nutricional, que son superiores a los de los alimentos tradicionales (Loo *et al.* 1999, Marquina y Santos 2003). El efecto positivo puede manifestarse tanto en el mantenimiento del estado de salud como en la reducción del riesgo de padecer una enfermedad (Cagigas y Blanco 2002).

Uno de los componentes funcionales de los alimentos es la fibra dietética, la cuál según acuerdos internacionales, puede definirse como: "Aquella parte de plantas o bien carbohidratos análogos que son resistentes a la digestión y a la absorción en el intestino delgado humano y que experimentan una fermentación parcial o total en el intestino grueso; incluyéndose en esta definición polisacáridos, oligosacáridos, lignina y sustancias vegetales asociadas" (American Association Of Cereal Chemists 2001; Deis 2001; Gibson 2004).

Desde un punto de vista analítico y fisiológico, sobretudo tomando en cuenta lo expuesto sobre la bioquímica y fermentación de los fructanos, tanto la inulina como los oligofructanos deben ser clasificados como fibra dietética (Ninness 1999; American Association Of Cereal Chemists 2001; Australian New Zealand Food Authority 2001; Pujato 2002; Tungland y Meyer 2002).

Ya se mencionó cómo los oligofructosacáridos pueden favorecer selectivamente el crecimiento de las bacterias lácticas y *Bifidobacterium* (Akin 2005). Esta capacidad de estimular el crecimiento en el colon de bacterias específicas consideradas beneficiosas, y de estimular y hasta anular el crecimiento de bacterias patógenas se conoce como efecto prebiótico (Ninness 1999; Loo *et al.* 1999; Roberfroid 2001; Cagigas y Blanco 2002; Marquina y Santos 2003; Langlands *et al.* 2004; Yeung *et al.* 2005).

De todos los polisacáridos y oligosacáridos no digeribles, solamente los oligofructosacáridos son actualmente los únicos reconocidos y utilizados en

alimentos como prebióticos al cumplir con todos los criterios de clasificación y seguridad alimentaria (Olesten y Gudmon-Hoyer 2000; Rosado y Ordanza 2003). De hecho no sólo son los más estudiados, sino además los más utilizados y los que presentan un mejor efecto general (Roberfroid 2001; Pujato 2002).

Los prebióticos no deben ser confundidos con los probióticos. Estos últimos son microorganismos vivos no patogénicos que son habitantes usuales del tracto digestivo, los cuales en su estado natural habitan en el ser humano (Kaplan y Hutkins 2000; Fric 2002; Pujato 2002), y que al ser agregados como suplemento en la dieta y ser consumidos en cantidades suficientes favorecen el desarrollo de una flora microbiana en el intestino (Gionchetti *et al.* 2002; Cagigas y Blanco 2002; Marquina y Santos 2003). Precisamente las bacterias lácticas y *Bifidobacterium* son ejemplos de probióticos donde las primeras suelen frecuentar el intestino delgado y las segundas el grueso (Pujato 2002). A diferencia de los *Bifidobacterium* que presentan poblaciones muy estables, los *Lactobacillus* suelen ser más fluctuantes. Los principales probióticos son las cepas de *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. reuteri*, *Bifidobacterium bifidum* y *B. longum*. También la levadura *S. boulardii* presenta actividad probiótica (Pujato 2002).

En muchos alimentos se incluyen tanto los prebióticos y probióticos integrando lo que se denomina un simbiótico. Por medio del simbiótico se facilita la implantación tanto del sustrato como de los microorganismos en el sistema gastrointestinal de huésped (Ninness 1999). Aunque el uso de simbióticos aún está en fase de estudio, es posible esperar que se de un efecto sinérgico entre prebióticos y probióticos (Cagigas y Blanco 2002). Experimentos de laboratorio han demostrado que cuando se emplean simbióticos, las bacterias de género *Bifidobacterium* mejoran su tasa de crecimiento a razón de 1,4 a 1,6 log UFC/g de heces (Gibson *et al.* 1995; Bielecka *et al.* 2002; Rosado y Ordanza 2003). El efecto es de un incremento de la flora intestinal de entre 54,8% a 73,4% cuando se emplean fórmulas prebióticas para infantes basadas en fructooligosacáridos (Bakker-Zierikzee 2005; Haarman y Knol 2005). Los simbióticos son empleados sobretudo en Europa y Japón en industrias lácteas, especialmente en yogurt y bebidas derivadas (Ninness 1999). El efecto simbiótico se potencia especialmente al usarse una alta concentración de sustrato y un bajo pH (Gibson *et al.* 1995). En los últimos años autores como Chen *et al.* (2005a) evaluaron el empleo de microencapsulados de bifidobacterias empleando

recubrimientos de alginato de sodio (1%), péptidos (1%) y fructooligosacáridos (3%) a modo de grageas ingeribles con efecto simbiótico.

Funcionalidades varias

Las propiedades fisicoquímicas y biológicas de los oligofructanos son tales que tienen muchas implicaciones que trascienden su naturaleza de fibra dietética y que son de importancia en la salud humana (Tungland y Meyer 2002).

Los oligofructanos rebalancian las actividades metabólicas como es el caso de la homeostasis lipídica, y fortalecen las funciones inmunes del organismo así como mejoran la biodisponibilidad de nutrientes al ser fermentados (Roberfroid 2001). El aumento en las defensas se debe a las capacidades inmunomoduladoras de las bacterias lácticas que crecen a expensas de los fructanos, es decir está implícito en la acción simbiótica (Buddington *et al.* 2002). Esto es particularmente evidente en infantes lactantes (European Comisión 2001).

Debido a su proceso fermentativo, los oligofructanos pueden afectar el epitelio intestinal favoreciendo el desarrollo de la mucosa y aumentando la resistencia a las enfermedades intestinales por un mecanismo de barrera (Cherbut 2002). Por esta misma razón, el consumo de oligofructanos favorece la no aparición de lesiones intestinales ulcerativas (Butel *et al.* 2002b), siendo el tratamiento de corto tiempo basado en la ingesta de fructooligosacáridos y bifidobacterias una de las mejores terapias para la inflamación asociada a la colitis ulcerativa activa (Furrie *et al.* 2005).

Se le atribuye a los oligofructanos la capacidad de evitar el estreñimiento al permitir una mejor formación del bolo fecal y favorecer la movilidad intestinal (Kaplan y Hutkins 2000; Roberfroid 2001; Dahl *et al.* 2005). El consumo diario de 3 a 10 g de fructanos genera un efecto anticonstipante en períodos tan cortos como una semana, lo cual es atribuible a un incremento en la producción de ácidos grasos de cadena corta, y a un aumento en la peristalsis producido por la alta población de bifidobacterias (Delaquis y Mazza 1998). El índice de formación del bolo fecal, es decir el aumento en el peso fresco en gramos del bolo fecal en función de los gramos de fructanos consumidos, es muy similar entre los oligofructanos y el de otras fibras fácilmente fermentables como las pectinas y las gomas, las cuales poseen una tasa de fermentación de más o menos 2-15 g/día (Ninnes 1999; Nyman 2002).

El aumento de la masa fecal se debe también a que a esta se suma la masa bacteriana generada en la intensa fermentación y al aumento en la capacidad de retención de agua otorgada por los carbohidratos no fermentados (Roberfroid 1999). Las deposiciones se vuelven no sólo más consistentes si no más frecuentes (Ninnes 1999). Además las deposiciones son más suaves en consistencia favoreciendo una defecación menos forzosa lo que genera menos stress a nivel del colon y el ano observándose que dosis de entre 20-40 g por día de inulina potencian un efecto laxante (American Association Of Cereal Chemists 2001).

Se ha observado además disminución de la diarrea, especialmente cuando ésta se encuentra relacionada con infecciones gastrointestinales, lo cual se puede deber al efecto inhibitorio de las bifidobacterias sobre los agentes infecciosos (Catala *et al.* 1999; Kaplan y Hutkins 2000; Roberfroid 2001; Szajewska y Mrukowicz 2002).

El consumo de oligofructanos, que como se expuso son de muy bajo nivel calórico, ayuda a la prevención de: arteriosclerosis, enfermedades cardiovasculares y hipertrigliceridemia, las cuales están asociadas a las dietas hipercalóricas (Roberfroid 2001). Paralelamente al disminuir la ingesta calórica disminuye el riesgo de obesidad y de padecer de diabetes tipo II (Gallo y O' Donnell 2003; Marquina y Santos 2003). La ingesta de estos carbohidratos puede mejorar también la intolerancia a la lactosa (Kaplan y Hutkins 2000). Además previene la esteatitis en el hígado, especialmente en personas obesas (Delzenne *et al.* 2002). La inulina y la oligofructosa son empleadas ampliamente como edulcorantes para diabéticos, aunque no es conocido ningún efecto sobre los niveles de glucosa en sangre ni en la secreción de insulina o glucagón, no obstante si se han reportado mejorías en la condición general de diabéticos cuando se emplean dosis altas de alrededor de 40-100 g/día (Ninnes 1999; Olesten y Gudmon-Hoyer 2000). Algunos autores postulan que sí podría haber efecto sobre la glucosa y el glucagón, al afectar los fructanos la dinámica de absorción de otros carbohidratos (Loo *et al.* 1999).

Existe una importante disminución en el riesgo de padecer cáncer de colon, dado que muchas de las bacterias nocivas cuyos metabolitos aceleran la aparición de lesiones ulcerosas se encuentran inhibidas por la acción simbiótica de los oligofructosacáridos y bifidobacterias (Loo *et al.* 1999; Hellwege *et al.* 2000; Roberfroid 2001; Taper y Roberfroid 2002). Esto está demostrado por estudios epidemiológicos que han encontrado que en poblaciones urbanas con mayor

incidencia en cáncer de colon, se ha logrado generar una reducción importante de la incidencia de este tipo de cáncer si se implantan dietas suplementadas con oligofructosacáridos (Marquina y Santos 2003). En estas mismas poblaciones, al identificar la flora se detectó una gran incidencia de bacteroides, los cuales al mejorar la dieta con fructanos desaparecen en gran medida dado el efecto inhibitorio resultante (Henryk y Roberfroid 2001). Se presume además, que el butirato generado durante la fermentación favorece la proliferación de células normales y suprime el crecimiento de células diferenciadas y potencialmente cancerígenas (Marquina y Santos 2003).

Al consumir fructanos hidrosolubles suele darse una reducción en los niveles de triglicéridos, colesterol y lipoproteínas (Fiordaliso *et al.* 1995; Loo *et al.* 1999; Olesten y Gudmond-Hoyer 2000). La hipotriglicemia se explica por el descenso en el plasma sanguíneo de lipoproteínas VLDL (lipoproteínas de muy baja densidad), ya que los fructanos inhiben la capacidad de interesterificación del palmitato hacia triacilglicerol reduciéndose como resultado la lipogénesis hepática (García 2000; Marquina y Santos 2003). La reducción puede llegar a ser hasta de un 19-27% (Pereira y Gibson 2002). Lee *et al.* (2004), reportan que la ingesta de inulina es de mucha utilidad en la reducción de los factores de riesgo asociados a la hiperglicemia en mujeres postmenopáusicas coreanas.

Se ha logrado asociar ingestas de 6 a 12 g de inulina diarios durante dos a tres meses con reducciones importantes en el colesterol sérico (hasta de 20-50 dl) (Gilliland y Walker 1990), lo cual va de la mano con una disminución de hasta el 25% en el riesgo de sufrir isquemias, término que en patología morfológica denota la falta total o parcial de sangre en un órgano o parte de él (Universidad Católica de Chile 2006). Algunos estudios establecen la hipótesis de que la inulina podría ser más efectiva en este sentido que los fructanos simples, dado su mayor peso molecular (American Association Of Cereal Chemists 2001). Aunque el mecanismo no se comprende completamente, se supone que los oligofructosacáridos hidrosolubles ligan el colesterol y los ácidos biliares en el lumen intestinal aumentando su excreción en las heces; esta reducción de la absorción de ácidos biliares provoca un cambio donde la síntesis de colesterol se deja de ejecutar y se cambia por una vía para generar ácidos biliares y reponer así el faltante que fue excretado (Bartnikowska 1999). Además es posible que las bacterias lácticas (*Lactobacillus acidophilus*; *Lactobacillus casei*), que experimentan un incremento debido a

la ingesta de fructanos, puedan ser capaces de asimilar también colesterol a la vez que producen metabolitos como el acetato y el propionato que podrían ser capaces de suprimir la síntesis de colesterol (Gilliland y Walker 1990; Liong y Shah 2005).

Los oligofructanos tienen la capacidad de disminuir la uremia y la amonemia, ya que el nitrógeno amoniacal generado en el colon por diversos procesos es incorporado a las proteínas de la biomasa bacteriana que crece durante la fermentación, lográndose de esta manera bloquear el paso de este nitrógeno a la sangre (Pujato 2002).

El consumo de los oligofructanos ha demostrado mejorar la absorción de minerales tales como el calcio (Loo *et al.* 1999), el magnesio, el zinc, el hierro (Franck 2002, Coudray *et al.* 2002; Yap *et al.* 2005), y el cobre (Ducros *et al.* 2005). La absorción de minerales generalmente se da en forma mayoritaria en el intestino delgado, aunque el intestino grueso puede también representar un sitio de absorción gracias a la ayuda de los ácidos grasos de cadena corta derivados de la fermentación (Tokunaga 2004). Se especula que la microflora presente en el colon al hacer decrecer el pH del lumen promueve la reducción química de los minerales, facilitando así su absorción; esto estimula a la vez la proliferación de células epiteliales con una mayor expresión de proteínas asociadas al transporte de minerales, con un consiguiente aumento no sólo de las superficies de absorción sino también de la eficiencia de las mismas (Yeung *et al.* 2005). El efecto es notorio para ingestas de entre 8-15 g por día de fructanos, generándose en el caso del calcio aumentos en la absorción de hasta un 19-26%, pudiendo llegar hasta un 55% para ingestas de 40 g diarios (Deis 2001; Montani 2004). El efecto pareciera ser acentuado en jóvenes y adolescentes en el caso del calcio, y en infantes cuando se empleaban dosis de 0,75- 1,0 g/día de inulina para el caso del hierro, magnesio y zinc (Yap 2005). La absorción mejorada del calcio ha mostrado ser muy importante en la salud ósea, pues se observa un marcado incremento del contenido de este mineral en el hueso y por ende una prevención de enfermedades como la osteoporosis (Scholz-Ahrens y Schrezenmeir 2002). Se asume que la presencia de cantidades elevadas de ácidos grasos de cadena corta provenientes de la fermentación, facilita la absorción de los minerales citados anteriormente a través de su cotransporte activo/pasivo con agua y sodio a través del epitelio intestinal y gracias a las condiciones del pH bajo predominante (Pujato 2002; Scholz-Ahrens y Schrezenmeir 2002; Ducros *et al.* 2005). Además, la

inulina al atraer agua al lumen mejora la solubilidad y grado de ionización de estos minerales, especialmente en condiciones de acidificación, favoreciendo su disponibilidad y posterior absorción por el epitelio intestinal (Pujato 2002; Montani 2004).

Inocuidad y limitaciones nutricionales

No existe evidencia experimental alguna que indique que los oligofruktanos presentan algún grado de toxicidad sin importar la cantidad ingerida como parte de la dieta; aunque en algunas personas se ha detectado que ingestas por encima de los 10 g diarios pueden llegar a producir un ligero malestar (Coussement 1999). Usualmente la tolerancia a los oligofruktanos no aumenta si se expone al individuo a ingestas continuas prolongadas (Olesten y Gudmond Hoyer 2000). Ingestas inusualmente altas de inulina pura pueden causar diarrea debido a una retención osmótica de fluidos tanto en el intestino grueso como en el intestino delgado (Lendorio 2003). Para estas cantidades, síntomas menores de flatulencia y distensión pueden producirse (Lendorio 2003). La máxima dosis de oligofruktanos que no causa diarrea en humanos es de 0,3 y 0,4 g por kg de peso corporal en hombres y mujeres respectivamente (Hidaka *et al.* 1986). Motivos como el anterior hacen que aún hoy no se considere en un 100% seguros a los fructanos para su inclusión en productos dirigidos a infantes para su ingesta durante los primeros meses de vida (European Comisión 2001).

En algunas personas, la rápida fermentación de los fructanos puede provocar una alta concentración de hidrógeno a nivel estomacal, lo que puede promover la peristalsis del colon, lo cual desemboca en sintomatologías similares a la intolerancia a la lactosa tales como defecaciones irregulares, flatulencia e irritabilidad abdominal (Olesten y Gudmond Hoyer 2000).

A diferencia de algunas fibras que pueden llegar a afectar la absorción de algunas vitaminas y minerales, no hay estudios que indiquen que los fructanos tienen este efecto, sino que al contrario potencian un mejoramiento de la absorción de los mismos (Coussement 1999).

Los fructanos pueden presentar también particularidades en la nutrición animal. Se ha demostrado, por ejemplo, que la variación estacional en el contenido de fructanos de los forrajes puede producir problemas metabólicos de resistencia a la insulina que tienen

consecuencias vasculares, como por ejemplo la aparición de laminitis en equinos (Longland 2003; Watts 2004; Pollitt 2004).

Las únicas limitaciones del uso de oligofruktanos en los intervalos de ingesta recomendados corresponden más a aspectos técnicos, pues se ha logrado demostrar que cuando los fructanos se emplean como edulcorantes en alimentos de baja acidez, es posible que los mismos sufran de una proteólisis lenta a fructosa, la cual pudiese afectar su funcionalidad nutricional (Coussement 1999).

Aplicaciones Conexas en la Agroindustria

Desde un punto de vista legal, los fructanos se consideran como macronutrientes e ingredientes (no como aditivos), que deben declararse en el etiquetado como inulina (Coussement 1999).

En la agroindustria la gama de aplicaciones paralelas a lo nutricional de estos compuestos es diversa y vigorosa, a tal punto que la dieta del estadounidense promedio incluye al menos en promedio unos 2,6 g diarios de inulina (Moshfegh *et al.* 1999).

Los principales usos son como sustitutos no carcinogénicos e hipocalóricos de azúcares edulcorantes como la sucrosa (Delaquis y Mazza 1998). Generalmente esto genera productos de confitería, chocolatería y bebidas de aceptación sensorial en general admisible en comparación con los productos edulcorados de forma convencional (Golob *et al.* 2004). En bebidas no gaseosas la adición de pectinas y oligofruktanos no afectan negativamente las propiedades sensoriales en forma negativa aún en concentraciones tan altas como un 15% (Freitas y Jackix 2004).

En alimentos de contenido de humedad muy elevado, especialmente en heladería y otros derivados lácteos (Vandoux 1992; Wouters 1998), así como en embutidos (Archer *et al.* 2004; Jávary 2005), los fructanos hidratados en concentraciones de 40-45% (Murphy 2001), adoptan una textura y una palatabilidad muy similar a la de la grasa. Por este motivo se les puede emplear como emulsores y sustitutos de la grasa (Pujato 2002), siendo por lo general la tasa de reemplazo equivalente 0,25 g de inulina para emular 1 g de grasa (Coussement 1999). Con esta sustitución se logra reducir el contenido energético de 37,6 kJ/g característico de las grasas al 2,09 kJ/g de la inulina hidratada (Murphy 2001). Las ventajas de utilizar la inulina

como reemplazo de la grasa radica en que se obtiene una palatabilidad, textura y cremosidad virtualmente idénticas (Montani 2004). A diferencia de otras fibras, los oligofructanos no dejan sabores residuales y pueden agregarse a la fibra convencional sin que esto involucre un incremento en la viscosidad de la matriz, por lo cual su uso permite aumentar el contenido de fibra sin que éste sea muy evidente (Niness 1999). En embutidos se han logrado obtener buenas experiencias sensoriales en cantidades donde el sustituto de grasa representa de un 2 a un 12% del producto final, con la ventaja de obtener así reducciones de hasta 35% en el valor energético total (Cáceres *et al.* 2004).

En yogurt, experimentos efectuados por Guven *et al.* (2005) señalan que una suplementación de leche descremada con 1% de inulina es capaz de generar un producto comparable en atributos sensoriales a un yogurt equivalente fabricado con leche entera, aunque adiciones ligeramente mayores incrementaron la separación del suero. Se ha demostrado que la adición no tiene efectos adversos en la acción de los cultivos lácteos iniciadores empleados en la manufactura (Özer *et al.* 2005).

Se ha reportado que la inulina inhibe el crecimiento de cristales de agua en el helado terminado y reduce la pérdida de fluidos (Murphy 2001).

En el caso de los edulcorantes, la libertad de sustitución es más limitada dado que el dulzor de la inulina es de apenas el 30% del generado por la sacarosa, razón por la cual la sustitución suele ser parcial (Coussemont 1999), especialmente con edulcorantes fuertes con los cuales existe por lo general una gran sinergia (Montani 2004). En la industria de la panificación, cuando se emplean fructanos con la intención de sustituir el azúcar (que suele inhibir la formación del gluten al competir por agua disponible), se ha observado que se obtiene un endurecimiento menor de la masa, por lo cual los productos generados a partir de dicha masa presentan un menor esfuerzo mecánico a la mordida (Gallagher *et al.* 2002). Se ha reportado (Moscatto *et al.* 2004) que la harina de trigo puede sustituirse en la elaboración de pasteles de chocolate con formulaciones de harina de yacón (40%) e inulina (6%) sin que esto signifique una disminución en la calidad sensorial del producto. Agregada a las harinas destinadas a la elaboración de pastas, la inulina influencia positivamente el índice de hinchamiento y la firmeza de estos productos, los cuales además presentan el beneficio nutricional de contar con un índice glicémico reducido en un 15% (Brennan *et al.* 2004). Böhm *et*

al. (2004), afirman que el tratamiento térmico de la inulina a temperaturas entre 135 y 190°C produce una constante disminución en la cantidad de este fructano, aspecto que debe tomarse muy en cuenta durante el procesamiento térmico asociado a los productos de panadería.

La inulina también es conocida por su capacidad de estabilizar espumas y emulsiones en su estado hidratado, especialmente cuando se incorpora en un 1-5% (Murphy 2001; Franck 2002). La inulina además se caracteriza por formar geles acuosos que tienden a ser cada vez menos plásticos a medida que aumenta la concentración de este polisacárido (Bot *et al.* 2004). La adición de inulina mejora la viscosidad y los tiempos de derretido cuando se usa como aditivo en helados, sin que esto involucre algún efecto sensorial negativo (Wouters 1998; Akin 2005).

En épocas recientes se ha tratado de dar usos alternativos a la inulina, tales como ser sustrato de hidrólisis para la generación de fructosa, etanol y 2,3-butanodiol. No obstante los métodos aún no son nada competitivos comparados con aquellos que generan estos compuestos a partir de petroquímicos u otras fuentes más tradicionales (Fuchs 1987).

La capacidad de disminuir el colesterol en sangre que tiene la inulina es aprovechable en el campo de la zootecnia, donde gallinas con dietas suplementadas al 1% con este oligofructosacárido han mostrado generar significativamente no sólo más huevos, si no que los mismos presentan cantidades reducidas de colesterol en la yema hasta en un 19,6% del contenido original (Chen *et al.* 2005a; Chen *et al.* 2005b; Chen *et al.* 2005c).

Consideraciones finales

En el mercado actual, los edulcorantes de bajo valor calórico están empezando a tener un marcado auge, especialmente los oligofructanos. Estos carbohidratos como se detalló a lo largo de este texto presentan una serie de características funcionales que los hacen muy atractivos. De hecho su producción industrial mundial ha aumentado en los últimos años especialmente en países asiáticos como Japón, que para el año 1995 generaba alrededor de 67.000 toneladas (Olesten y Gudmond-Hoyer 2000).

El uso de los fructanos se potencia además en el hecho de que la ingesta promedio de prebióticos es re-

lativamente baja, abriéndose la posibilidad de mejorar la misma incluyendo fructanos en muchos productos que tradicionalmente no son fuente de fibra, especialmente si se toma en cuenta que son los únicos aditivos legales para ser usados como fuente de fibra dietética (Anónimo 2003).

Murphy (2001) señala que la inulina representa un gran mercado con ventas de 16,1 billones de dólares sólo en Europa para el año 2001.

Como se ve el mercado es sustancial y continúa expandiéndose, especialmente porque la población mundial toma cada vez más conciencia de los beneficios inherentes al consumo de fibra. Se estima que el mercado de los alimentos funcionales crece alrededor de un 15-20% anualmente en una industria que se calcula vale \$33 billones (Shah 2002). Aunque el mercado actual está dominado por compañías japonesas (Murphy 2001), el interés europeo crece con celeridad, lo que se refleja en una amplia gama de productos emergentes. Son nuestros países latinoamericanos los que no muestran aún un repunte documentado en este apartado.

A pesar de que la producción global de oligosacáridos está alcanzando alrededor de los 60 millones de libras, estos son aditivos prácticamente desconocidos en los Estados Unidos. Lo anterior se debe primordialmente a las restricciones de la FDA, al temor de incursionar en terrenos desconocidos de muchas compañías y al poco o nulo etiquetado nutricional en idioma inglés para los productos importados (Utha State University 2003). Esto puede explicar el hecho de que los habitantes de países desarrollados como Estados Unidos no consuman masivamente fructanos, a pesar de sus reconocidas cualidades funcionales (Deis 2001). La ingesta diaria por persona a partir de fuentes naturales, ha sido estimada en sólo 80 mg/día (De-laquis y Mazza 1998).

Avances en el campo del procesamiento y tecnología de los fructanos se suscitan día a día, por lo que se espera que los mismos presenten funcionalidades mejoradas y diversificadas en los próximos años (Murphy 2001).

Dado el creciente aumento de la demanda de fructosa, es muy probable que en un futuro cercano, las inulinas y fructanos constituyan una de las principales fuentes de sustrato hidrolizable para la obtención de este carbohidrato a nivel industrial (Fuchs 1987).

Afortunadamente, en la actualidad se encuentran muy desarrollados los métodos de extracción, purificación, caracterización y aplicación de los oligofructanos, campos que además avanzan y se tecnifican más día con día (Utha State University 2003). El promisorio avance de las técnicas de obtención y mejoramiento de los fructanos, permitirá a muchos países en vías de desarrollo como los latinoamericanos reducir costos en el control y mejoramiento de la salud, ofrecer una mejor calidad de vida y una mayor variedad de productos saludables (Loo *et al.* 1999). No obstante el esfuerzo científico y tecnológico en dichos países es limitado.

El futuro exigirá el desarrollo de tecnologías de empaque y procesamiento que salvaguarde la integridad de los fructanos y su función simbiótica, así como investigación que remueva muchos de los tabúes asociados al consumo de alimentos funcionales (López *et al.* 2002). La ingeniería genética destinada a lograr la generación en los cultivos de una mayor cantidad de fructanos de cadena larga, con una mayor tasa de sobrevivencia a la poscosecha y a los tratamientos ulteriores es uno de los caminos futuros a tomar, no sólo para generar una mayor aplicabilidad y rendimiento industrial, si no para entender mejor la complejidad de la biosíntesis de estos carbohidratos (Vijn y Smeekens 1999).

LITERATURA CITADA

- AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. 2001. The definition of dietary fiber. *Cereals Food World* 46 (3): 112-129.
- AKIN, M. S. 2005. Effects of inulin and different sugar levels on viability of probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics of probiotic fermented ice-cream. *Milchwissenschaft* 60(3): 297-301
- ANONIMO. 1994. Inulin and oligofructoses: natural fructans of vegetable origin with unique nutritional and technical characteristics. *Nordisk Mejeriinformation*. 21(11-12): 282-283
- ARCHER, B. J.; JOHNSON, S. K.; DEVEREUX, H. M.; BAXTER, A. L. 2004. Effect of fat replacement by inulin or lupin-kernel fibre on sausage patty acceptability, post-meal perceptions of satiety and food intake in men. *British Journal of Nutrition* 91(4): 591-599.
- AUSTRALIAN NEW ZEALAND FOOD AUTHORITY. 2001. Inulin and fructooligosaccharides as dietary

- fibre (en línea). Consultado 28 sept. 2005. Disponible en: [http://www.foodstandards.gov.au/_srcfiles/A277%20IR\(FULL\).pdf](http://www.foodstandards.gov.au/_srcfiles/A277%20IR(FULL).pdf)
- BAKKER-ZIERIKZEE, A. M. 2005. Prebiotics and probiotics in infant nutrition (en línea). Holanda, Wageningen University. Consultado (sólo resumen) 10 oct. 2005. Disponible en: <http://library.wur.nl/wda/abstracts/ab3691.html>
- BARTNIKOWSKA, E. 1999. The rol of dietary fiber. *In*: Sunsoo, S.; Prosky, L.; Dreher, M. eds. *Complex carbohydrates in foods*. New York. Marcel Drekker Inc. 676 p.
- BARTOSCH, S.; WOODMANSEY, E. J.; PATERSON, J. C. M.; MCMURDO, M. E. T.; MACFARLANE, G. T. 2005. Microbiological effects of consuming a synbiotic containing *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium lactis*, and oligofructose in elderly persons, determined by real-time polymerase chain reaction and counting of viable bacteria. *Clinical Infectious Diseases* 40(1): 28-37.
- BIELECKA, M.; BIEDRZYCKA, E.; MAJKOWSKA, A. 2002. Selection of probiotics and prebiotics for symbiotic and confirmation of their *in vivo* effectiveness. *Food Research International* 35(2/3):125-131.
- BÖHM, A.; KAISER, I.; TREBSTEIN, A.; HENLE, T. 2004. Heat-induced degradation of inulin. *Czech Journal of Food Sciences (Special Issue)*: 90-92.
- BOT, A.; ERLE, U.; VREEKER, R.; AGTEROF, W. G. M. 2004. Influence of crystallisation conditions on the large deformation rheology of inulin gels. *Food Hydrocolloids* 18(4): 547-556.
- BRENNAN, C. S.; KURI, V.; TUDORICA, C. M. 2004. Inulin-enriched pasta: effects on textural properties and starch degradation. *Food Chemistry* 86(2): 189-193.
- BRUGGENCATE, S.J.M. 2004. Dietary non-digestible carbohydrates and the resistance to intestinal infections. Tesis Doctoral. Wageningen, Holanda. Wageningen University. 159 p.
- BUDDINGTON, R. K.; KELLY-QUAGLIANA, K.; BUDDINGTON, K. K.; KIMURA, Y. 2002. Non-digestible oligosaccharides and defense functions: lessons learned from animal models. *British Journal of Nutrition* 87(Suppl. 2): S231-S239.
- BUNOUT, D.; BARRERA, G.; HIRSCH, S.; GATTAS, V.; MAZA, M. P.; HASCHKE, F.; STEENHOUT, P.; KLASSEN, P.; HAGER, C.; AVENDAÑO, M.; PETERMANN, M.; MUÑOZ, C. 2004. Effects of a nutritional supplement on the immune response and cytokine production in free-living Chilean elderly. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* 28(5): 348-354.
- BUTEL, M. J.; CATALA, I.; WALIGORA DUPRIET, A. J.; TAPER, H.; TESSEDE, A. C.; DURAO, J.; SZYLIT, O. 2002a. Protective effect of dietary oligofructose against cecitis induced by clostridia in gnotobiotic quails. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 13(3): 166-172.
- BUTEL, M.J.; WALIGORA DUPRIET, A.J.; SZYLIT, O. 2002b. Oligofructose and experimental model of neonatal necrotizing enterocolitis. *British Journal of Nutrition*, 87(2): S213-S219.
- CÁCERES, E.; GARCÍA, M.L.; TORO, J.; SELGAS, M.D. 2004. The effect of fructooligosaccharides on the sensory characteristics of cooked sausages. *Meat Science* 68(1): 87-96.
- CAGIGAS, A.L.; BLANCO, J. 2002. Probióticos y prebióticos, una relación beneficiosa. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición* 16(1): 63-68.
- CAIRNS, A. 2002. Fructan biosynthesis in transgenic plants. *Journal of Experimental Botany* 54(382): 549-567.
- CARVALHO, S.; TOLEDO, I.; ARAÚJO, F.; PEREIRA, G. 2004. Fructanos en raíces tuberosas de yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poep.; Endl.) expuestas al sol y almacenadas bajo condiciones ambientales. *Agrociencia* 20(1): 17-23.
- CATALA I.; BUTEL M.J.; BENSAAADA M.; POPOT F.; TESSEDE A. C.; RIMBAULT A.; SZYLIT O. 1999. Oligofructose contributes to the protective role of bifidobacteria in experimental necrotising enterocolitis in quails. *Journal of Medical Microbiology* 48(1): 89-94
- CHEN, K.; CHEN, M.; LIU, J.; LIN, C.; CHIU H. 2005a. Optimization of incorporated prebiotics as coating materials for probiotic microencapsulation. *Journal of Food Science* 70(5): M260-M266.
- CHEN, Y. C.; NAKTHONG, C.; CHEN, T. C. 2005b. Improvement of laying hen performance by dietary prebiotic chicory oligofructose and inulin. *International Journal of Poultry Science* 4(2): 103-108.
- CHERBUT, C. 2002. Inulin and oligofructose in the dietary fiber concept. *British Journal of Nutrition* 87(2): S159-S162.
- COUDRAY, C.; TRESSOL, J. C.; GUEUX, E.; RAYSSIGUIER, Y. 2002. Effects of inulin-type fructans of different chain length and type of branching on intestinal absorption and balance of calcium and magnesium in rats. *European Journal of Nutrition*. 2003, 42(2): 91-98.
- COUSSEMENT, P. A. 1995. A new generation of dietary fibres. *European Dairy Magazine* 7(3):22-24.

- COUSSEMENT, P.A. 1999. Inulin and oligofructose: safe intakes and legal status. *Journal of nutrition* 129: 1412S-1417S.
- DAHL, W. J.; WHITING, S. J.; ISAAC, T. M.; WEEKS, S. J.; ARNOLD, C. J. 2005. Effects of thickened beverages fortified with inulin on beverage acceptance, gastrointestinal function, and bone resorption in institutionalized adults. *Nutrition* 21(3): 308-311.
- DEIS, R. 2001. Dietary Fiber: a new beginning? (en línea). Consultado 24 jun. 2004. Disponible en: <http://www.foodproductdesign.com/archive/2001/1201ap.html>
- DELAQUIS, P.; MAZZA, G. 1998. Functional Vegetable Products. In: Mazza, G. ed. *Functional Foods: biochemical and processing aspects*. Technomic Publishing Co. Pennsylvania, EE.UU. 460 p.
- DELZENNE, N. M.; DAUBIOUL, C.; NEYRINCK, A.; LASA, M.; TAPER, H. S. 2002. Inulin and oligofructose modulate lipid metabolism in animals: review of biochemical events and future prospects. *British Journal of Nutrition* 87(2): S255-S259.
- DYSSELER, P.; HOFFEM, D.; FOCKEDEVY, J.; QUEMENER, B.; THIBAUT, J.F.; COUSSEMENT, P. 1999. Determination of inulin and oligofructose in food products (modified AOAC dietary fiber method). In: Sunsoo, S; Prosky, L ; Dreher, M. eds. *Complex carbohydrates in foods*. New York. Marcel Drekker Inc. 676 p.
- DOUGLAS, J. A.; SCHEFFER, J. J. C.; SIMS, I. M. ; TRIGGS, C. M. 2002/2003. Maximizing fructo-oligosaccharide production in yacon. *Agronomy New Zealand* (32/33): 49-55
- DUCROS, V.; ARNAUD, J.; TAHIRI, M.; COUDRAY, C.; BORNET, F.; BOUTELOUP, C.; BROUNS, F. ; RAYSSIGUIER, Y.; ROUSSEL, A. M. 2005. Influence of short-chain fructo-oligosaccharides (sc-FOS) on absorption of Cu, Zn, and Se in healthy postmenopausal women. *Journal of the American College of Nutrition* 24(1): 30-37.
- DURIEUX, A.; FOUGNIES, C.; JACOBS, H. ; SIMON, J. P. 2001. Metabolism Of Chicory Fructooligosaccharides by bifidobacteria. *Biotechnology Letters* 23(18):1523-1527.
- ENDE, W. V. D.; WONTERGHEM, D. V.; VERHAERT, P.; DEWIL, E.; LAERE, A. 1996. Purification and characterization of fructan: fructan fructosyl transferase from chicory (*Cichorium intybus* L.) roots. *Planta*. 199(4): 493-502.
- EUROPEAN COMMISSION. 2001. Statement on the use of resistant short chain carbohydrates in infant formulae and in follow on formulae. E.C.S.C.F Brucelas.
- FIORDALISO, M.; KOK, N.; DESAGER, J. P; GOETHALS, F.; DEBOYSER, D.; ROBERFROID, M.; DELZENNE, N. 1995. Dietary oligofructose lowers triglycerides, phospholipids and cholesterol in serum and very low density lipoproteins of rats. *Lipids* 30(2): 163-167.
- FLAMM, G.; GLINSMANN, W.; KRITCHEVSKY, D.; PROSKY, L.; ROBERFROID, M. 2002. Inulin and oligofructose as dietary fiber: a review of the evidence. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 41(5): 353-362.
- FLETCHER, R. 1999. Yacon. The Australian new crops newsletter 12: sp.
- FLICKINGER, E.A ; FAHEY, G.C. 2002. Pet food applications of inulin, oligofructose and other oligosaccharides. *British Journal of Nutrition* 87(2):297-300.
- FRANCK, A. 2002. Technological functionality of inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition* 87(2): S287-S291.
- FREITAS, D. ; JACKIX, M. 2004. Physico-chemical characterization and sensory acceptance of functional drink added of fructooligosaccharides and soluble fiber. *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos* 22(2): 355-374.
- FRIC, P. 2002. Probiotics in gastroenterology. *Zeitschrift fuer gastroenterology* 40(3): 197-201.
- FUCHS, A. 1987. Potentials for non food utilization of fructose and inulin. *Starke* 10:335-343.
- FURRIE, E. ; MACFARLANE, S. ; KENNEDY, A.; CUMMINGS, J. H. ; WALSH, S. V.; O'NEIL, D. A.; MACFARLANE, G. T. 2005. Synbiotic therapy (Bifidobacterium longum /Synergy 1) initiates resolution of inflammation in patients with active ulcerative colitis: a randomized controlled pilot trial. *Gut* 54(2): 242-249.
- GALLAGHER, E.; O'BRIEN, C. M.; SCANNELL, A. G. M.; ARENDT, E. K. 2002. Evaluation of sugar replacers in short dough biscuit production. *Journal of Food Engineering*: 56(2-3): 261-263.
- GALLO, J.; O'DONNELL, C. 2003. Ingredients in use: dietary fiber. Formulation and ingredient challenges sn: sf.
- GARCÍA, M. 2000. Efectos fisiológicos de la inulina y de la oligofructosa (en línea). Consultado 24 junio 2004. Disponible <http://www.fonendo.com/noticias/40/200/09/2.shtml>
- GENNARO, S. D. E.; BIRCH, G. G.; PARKE, S. A.; STANCHER, B. 2000. Studies on the physicochemical properties of inulin and inulin oligomers. *Food-Chemistry*. 2000, 68(2): 179-183.

- GIACCO, R. ; CLEMENTE, G.; LUONGO, D. ; LASORELLA, G.; FIUME, I.; BROUNS, F.; BORNET, F.; PATTI, L.; CIPRIANO, P.; RIVELLESE, A. A.; RICCARDI, G. 2004. Effects of short-chain fructo-oligosaccharides on glucose and lipid metabolism in mild hypercholesterolaemic individuals. *Clinical Nutrition* 23(3): 331-340.
- GIBSON, G. R. 2004. From probiotics to prebiotics and a healthy digestive system. *Journal of Food Science* 69(5): M141-M143.
- GIBSON, G. R.; BEATTY, E. R.; WANG, X.; CUMMINGS, J. H. 1995. Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *Gastroenterology*. 108(4) 975-982.
- GILLILAND, S. E. ; WALKER, D. K. 1990. Factors to consider when selecting a culture of *Lactobacillus acidophilus* as a dietary adjunct to produce a hypocholesterolemic effect in humans. *Journal of Dairy Science* 73(4): 905-911.
- GIONCHETTI, P.; AMADINI, C.; RIZZELLO, F.; VENTURI, A.; ROMAGNOLI, R.; PALMONARI, V.; DE SIMONE, C.; CAMPIERI, M. 2002. Role of probiotics in inflammatory bowel disease and intestinal infections. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 11(8): 1277-1283.
- GOLOB, T.; MICOVIC, E.; BERTONCELJ, J.; JAMNIK, M. 2004. Sensory acceptability of chocolate with inulin. *Acta Agriculturae Slovenica* 83(2): 221-231.
- GUVEN, M.; YASAR, K.; KARACA, O. B. ; HAYALOGLU, A. A. 2005. The effect of inulin as a fat replacer on the quality of set-type low-fat yogurt manufacture. *International Journal of Dairy Technology* 58(3): 180-184.
- HAARMAN, M.; KNOL, J. 2005. Quantitative real-time PCR assays to identify and quantify fecal Bifidobacterium species in infants receiving a prebiotic infant formula. *Applied and Environmental Microbiology* 71(5): 2318-2324.
- HELLWEGE, E.; CZAPIA, S.; JAHNKE, A.; WILLMITZER, L.; HEYER, A. 2000. Transgenic potato tubers synthesize the full spectrum of inulin molecules naturally occurring in globe artichoke. *Plant Biology* 97(15): 8699-8704.
- HENRYK, S.; ROBEFROID, M. 2001. Nontoxic potentiation of cancer chemotherapy by dietary oligofructose or inulin. *Nutrition and Cancer* 38 (1):1-5.
- HIDAKA, H.; EIDA, T.; TAKIZAWA, T.; TOKUNAGA, T.; TASHIRO, Y. 1986. Effects of fructooligosaccharides on intestinal flora and human health. *Bifidobacteria and Microflora* 5(1): 37-50.
- HOFER, K.; JENEWEIN, D. 1999. Enzymatic determination of inulin in food and dietary supplements. *European Food Research and Technology* 209(6): 423-427.
- HOGARTH, A. J.; HUNTER, D. E.; JACOBS, W. A.; GARLEB, K. A.; WOLF, B. W. 2000. Ion chromatographic determination of three fructooligosaccharide oligomers in prepared and preserved foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48(11):5326-5330.
- HOPKINS, M. J.; CUMMINGS, J. H.; MACFARLANE, G. T. 1998. Inter-species differences in maximum specific growth rates and cell yields of bifidobacteria cultured on oligosaccharides and other simple carbohydrate sources. *Journal of Applied Microbiology*. 85(2) 381-386.
- INFOAGRO. 2004. El cultivo de la dalia (en línea). Consultado 10 oct. 2005. Disponible en: <http://www.infoagro.com/flores/flores/dalia.htm>
- JÁNVÁRY, L. 2005. Dietary fibre as a lipid substitute. *Fleischwirtschaft* 85(2): 22-23.
- KAPLAN, H. ; HUTKINS, R. W. 2000. Fermentation of fructooligosaccharides by lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 66(6): 2682-2684.
- LACHMAN, J.; HAVRLAND, B.; FERNÁNDEZ, E. C. ; DUDJAK, J. 2004. Saccharides of yacon (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. et Endl. H. Robinson) tubers and rhizomes and factors affecting their content. *Plant, Soil and Environment* 50(9): 383-390.
- LANGLANDS, S. J.; HOPKINS, M. J.; COLEMAN, N.; CUMMINGS, J. H. 2004. Prebiotic carbohydrates modify the mucosa associated microflora of the human large bowel. *Gut* 53(11): 1610-1616.
- LEE, E.Y.; KIM, Y.Y; JANG, K.H.; KANG S ; CHOUE R. 2004. The effect of inulin supplementation on blood lipid levels, and fecal excretion of bile acid and neutral sterol in Korean postmenopausal women. *Korean Journal of Nutrition* 37(5):352-363.
- LENDORIO, R. 2003. Oligosacáridos como ingredientes funcionales (en línea). Consultado 24 jun. 2004. Disponible en: <http://www.icofma.es/vocalias/alimentacion/oligosacaridos1.htm>
- LIONG, M. T. ; SHAH, N. P. 2005. Optimization of cholesterol removal by probiotics in the presence of prebiotics by using a response surface method. *Applied and Environmental Microbiology* 71(4): 1745-1753.
- LONGLAND, A.C. 2003. Laminitis (en línea). Consultado 24 jun. 2004. Disponible en: <http://members.aol.com/wdds1/horsetalk/dh-sci1lam.htm>

- LOO, J.; CUMMINGS, J.; DELZENNE, N.; ENGLYST, H.; FRANCK, A.; HOPKINS, M.; KOK, N.; MACFARLANE, G.; NEWTON, D.; QUIGLEY, M.; ROBERFROID, M.; VLIET, T.; HEUVEL, E. 1999. Functional food properties of non-digestible oligosaccharides: a consensus report from the ENDO project (DGXII AIRII-CT94-1095). *British Journal of Nutrition* 81(2): 121-132.
- LOO, V.; VAN, L. 1995. Voedingsvezels inuline en oligofructose als aanvulling op voeding. *Voeding* 56: 4, 6-10.
- LÓPEZ, D.; NAVARRO, M. D.; ROJAS MELGAREJO, F.; HINER, A. N. P.; CHAZARRA, S.; RODRÍGUEZ, J. N. 2005. Molecular properties and prebiotic effect of inulin obtained from artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Phytochemistry* 66(12): 1476-1484.
- LÓPEZ, V. S.; GONZÁLEZ, G. M.; MARCOS, A. 2002. Functional foods and the immune system: a review. *European Journal of Clinical Nutrition* 56 (3): S29-S33.
- LOSSO, J.W.; HAKAI, S. 1997. Molecular size of garlic FOS by matrix assisted desorption ionization mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45 (11): 4342-4346.
- LUSCHER, M.; FREHNER, M.; NOSBERGER, J. 1993. Purification and characterization of fructan: fructan fructosyltransferase from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). *New Phytologist*. 123(4): 717-724.
- MACCLEARY, B.; MURPHY, A.; MUGFORD, D. 2000. Measurement of total fructan in foods by enzymatic spectrophotometric method. *Journal of AOAC International* 83(2): 356-364.
- MANRIQUE, M.; LEÓN, O.; ANTOLÍN, G. 2005. Influencia de la etapa de deshidratación sobre el contenido de inulina en *Cichorium intybus* L. *Alimentación, Equipos y Tecnología* 24(197): 145-150.
- MARQUINA, D.; SANTOS, A. 2003. Probióticos, prebióticos y salud. *Revista Actualidad* 32: 24-27.
- Mc CLEARY, B. V.; ROSSITER, P. 2004. Measurement of novel dietary fibers. *Journal of AOAC International* 87(3): 707-717.
- MCBAIN, A. J.; MACFARLANE, G. T.; VONK, R. J. 1997. Investigations of bifidobacterial ecology and oligosaccharide metabolism in a three stage compound continuous culture system. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 32(222): 32-40.
- MONTANI, M. 2004. Memoria del Primer Seminario en Alimentos Funcionales y su Beneficio Sobre la Salud Humana. San José, Costa Rica, Cooperativa Dos Pinos. I disco compacto 8 mm.
- MONTI, A.; AMADUCCI, M. T.; PRITONI, G.; VENTURI, G. 2005. Growth, fructan yield, and quality of chicory (*Cichorium intybus* L.) as related to photosynthetic capacity, harvest time, and water regime. *Journal of Experimental Botany* 56(415): 1389-1395.
- MOSCATTO, J. A.; PRUDÊNCIO, S. H.; HAULY, M. C. O. 2004. Yacon meal and inulin as ingredients in chocolate cake preparation. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 24(4): 634-640.
- MOSHFEGH, A.J.; FRIDAY, J.E.; GOLDMAN, J.P.; AHUJA, J.K. 1999. Presence of inulin and oligofructose in the diets of Americans. *Journal of Nutrition* 129: S1407-S1411.
- MURPHY, O. 2001. Non polyol low digestible carbohydrates: food applications and functional benefits. *British Journal of Nutrition* 85(1): S47-S53.
- NINESS, K. 1999. Breakfast foods and the health benefits of inulin and oligofructose. *Cereal Foods World* 44(2): 79-81.
- NYMAN, M. 2002. Fermentation and bulking capacity of indigestible carbohydrates: the case of inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition* 87(2): S163-S168.
- OLESTEN, M.; GUDMOND-HOYER, E. 2000. Efficacy, safety and tolerability of oligofructosaccharides in the treatment of irritable bowel syndrome. *American Journal of Clinical Nutrition* 72: 1570-1575.
- OTERO, R. 2003. Oligosacáridos como ingredientes funcionales (en línea). Consultado 24 jun. 2004. Disponible <http://www.icofina.es/vocalias/alimentacion/oligosacaridos1.htm>
- ÖZER, D.; AKIN, S.; ÖZER, B. 2005. Effect of inulin and lactulose on survival of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium bifidum* BB-02 in Acidophilus-Bifidus yoghurt. *Food Science and Technology International* 11(1): 19-24.
- PEREIRA, D.I.A.; GIBSON, G.R. 2002. Effects of consumption of probiotics and prebiotics on serum lipid levels in humans. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 37(4), 259-281
- PERRIN, S.; WARCHOL, M.; GRILL, J. P.; SCHNEIDER, F. 2001. Fermentations of fructooligosaccharides and their components by *Bifidobacterium infantis* ATCC

- 15697 on batch culture in semi synthetic medium. *Journal of Applied Microbiology* 90(6):859-865.
- POLLITT, C. C. 2004. Equine laminitis. *Clinical Techniques in Equine Practice* 3(1): 34-44.
- PUJATO, D. 2002. Los alimentos prebióticos (en línea). Consultado 24 jun. 2004. Disponible <http://www.gineconet.com/articulos/1361.htm>
- RABE, E. 1999. Effects of processing on dietary fiber in foods. *In: Sunsoo, S; Prosky, L ; Dreher, M. eds. Complex carbohydrates in foods.* New York. Marcel Drekker Inc. 676 p.
- RACCUIA, S. A.; MELILLI, M. G. ; SCANDURRA, S. 2004. Potential utilization of globe artichoke [*Cynara cardunculus* L. subsp. *scolymus* (L.) Hegi] crop residues: biomass for energy and roots for inulin production. *Acta Horticulturae* 660: 607-613.
- ROBERFROID, M. 2001. Prebiotics: preferential substrates for specific germs. *American Journal of Clinical Nutrition* 65(5):405-408.
- ROBERFROID, M. B.; LOO, J. V.; GIBSON, G. R.; VAN, L. J. 1998. The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. *Journal of Nutrition* 128(1): 11-19.
- ROBERFROID, M.B. 1999. Dietary fiber properties and health benefits of non digestible oligosaccharides. *In: Sunsoo, S; Prosky, L.; Dreher, M. eds. Complex carbohydrates in foods.* New York. Marcel Drekker Inc. 676 p.
- ROBERFROID, M.B. 2002. Functional foods: concepts and application to inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition* 87(2):S139-S143
- ROBERFROID, M.B.; DELZENNE, N. M. 1998. Dietary fructans. *Annual Review of Nutrition* 18: 117-143.
- ROSADO, J ; ORDANZA, M. 2003. Prebióticos y probióticos: efectos e implicaciones en la fisiología de la nutrición (en línea). Consultado 28 septiembre 2005. Disponible <http://www.nutrar.com/detalle.asp?ID=2358>.
- SAENGTHONGPINIT, W.; SAJJAANANTAKUL, T. 2005. Influence of harvest time and storage temperature on characteristics of inulin from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers. *Postharvest Biology and Technology* 37(1): 93-100.
- SCHOLZ-AHRENS, K.E.; SCHREZENMEIR, J. 2002. Inulin, oligofructose and mineral metabolism experimental data and mechanism. *British Journal of Nutrition* 87(2): S179-S1863.
- SCHULTHEIS, J. 1999. Growing Jerusalem Artichokes. N.C State University Information Leaflets. USA.
- SHAH, N. P. 2002. Functional foods from probiotics and prebiotics. *Food Technology* 55(11): 46-53.
- STEEGMANS, M.; ILIAENS, S.; HOEBREGS, H. 2004. Enzymatic, spectrophotometric determination of glucose, fructose, sucrose, and inulin/oligofructose in foods. *Journal of AOAC International* 87(5): 1200-1207.
- SUZUKI, M.; CHATTERTON, N.J. 1996. Science and technology of fructans. CRC Press. USA.
- SZAJEWSKA, H.; MRUKOWICZ, J. Z. 2002. Probiotics in the treatment and prevention of acute infectious diarrhea in infants and children: a systematic review of published randomized, double blind, placebo controlled trials. *Journal of Paediatric Gastroenterology and Nutrition* 33(2): S17-S25.
- TAPER, H. S.; ROBERFROID, M. B. 2002. Inulin/oligofructose and anticancer therapy. *British Journal of Nutrition* 87(2), S283-S286.
- TITA, R.; SMEEKENS, S. 2003. Fructans: beneficial for plants and humans. *Current Opinion in Plant Biology* 6(3): 223-230.
- TOKUNAGA, T. 2004. Novel physiological function of fructooligosaccharides. *BioFactors* 21(1/4): 89-94.
- TUNGLAND, B.C.; MEYER, D. 2002. Nondigestible oligo and polysaccharides: their physiology and role in human health and food. *Comprehensive reviews in food science and food safety* 74: 73-77.
- UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CHILE. 2006. Manual de patología general (en línea). Consultado 13 jun. 2006. Disponible http://escuela.med.puc.cl/publ/patologia_general/Patol_037.html
- UTAH STATE UNIVERSITY. 2003. Talks USA (en línea). Consultado 24 jun. 2004. Disponible en: <http://www.usu.edu/~forage/frucabs.htm>
- VANDOUX, D. 1992. Oligofructose: tous les espoirs sont permis. *Process (Rennes)* 1072: 52-53.
- VERGAUWEN, R.; LAERE, A. ; ENDE, W. 2003. Properties of fructan: fructan 1-fructosyltransferases from chicory and globe thistle, two asteracean plants storing greatly different types of inulin. *Plant Physiology* 133(1): 391-401.
- VIJN, I.; SMEEKENS, S. 1999. Fructan: more than a reserve carbohydrate? *Plant Physiology* 120: 351-359.

- WANG, N.; PARK, S. 1997. Phloem transport of fructans in the crassulace acid metabolism species *Agave deserti*. *Plant Physiology*. 116(2): 709-714.
- WATTS, K. A. 2004. Forage and pasture management for laminitic horses. *Clinical Techniques in Equine Practice* 3(1): 88-95.
- WOUTERS, R. 1998. Technological and nutritional benefits in the production of ice cream. *Latte*. 23(8): 24-26.
- YAP, K. W.; MOHAMED, S.; YAZID, A. M.; MAZNAH, I.; MEYER, D. M. 2005. Dose-response effects of inulin on the faecal short-chain fatty acids content and mineral absorption of formula-fed infants. *Nutrition; Food Science* 35(3/4): 208-219.
- YEUNG, C. K.; GLAHN, R. P.; WELCH, R. M.; MILLER, D. D. 2005. Prebiotics and iron bioavailability is there a connection? *Journal of Food Science* 70(5): R88-R92.
- YUN, J.W. 2003. Fructooligosaccharides: occurrence, preparation and applications (en línea). Consultado 24 jun. 2004. Disponible en: <http://biho.tae.ac.kr/~jwyun/yun15.htm>