

## PRINCIPALES PREBIÓTICOS Y SUS EFECTOS EN LA ALIMENTACIÓN HUMANA

Main prebiotics and their effects on human nutrition

**Pérez-Conesa D.\*, López G., Ros G.**

Nutrición y Bromatología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, Campus de Espinardo, 30071 Murcia, España

\* Autor de referencia: [dario@um.es](mailto:dario@um.es)

### RESUMEN

Dado el actual creciente interés científico y comercial por los alimentos funcionales, el presente artículo es una revisión de los principales efectos beneficiosos que sobre la salud humana se han descrito tras el consumo de los prebióticos, considerados como ingredientes funcionales. Una especial atención se presta al empleo de los oligosacáridos no digeribles (OND) al considerarse como compuestos de capacidad prebiótica. Dentro de los OND, los fructooligosacáridos, galactooligosacáridos y sojaoligosacáridos han sido los más ampliamente estudiados y los que han mostrado poseer un marcado efecto prebiótico.

**Palabras clave:** alimentos funcionales, prebióticos, oligosacáridos no digeribles, fructooligosacáridos, galactooligosacáridos

### ABSTRACT

Because of the current scientific and commercial interest on functional foods, the present article reviews the main human health effects described after prebiotics consumption, considerate as functional ingredients. A special attention is paid to the use of non-digestible oligosaccharides (NDO) for being considered as prebiotic components. Within NDO group, fructooligosaccharides, galactooligosaccharides and soybean oligosaccharides have been the components more widely studied and they have shown to have a strong prebiotic effect.

**Keywords:** functional foods, prebiotics, non-digestible oligosaccharides, fructooligosaccharides, galactooligosaccharides

## INTRODUCCIÓN

Los últimos años han supuesto un cambio en los conceptos básicos de la nutrición humana, hasta ahora la idea tradicional de una «dieta adecuada» estaba referida únicamente al aporte de nutrientes suficientes para asegurar la supervivencia de un individuo, cubrir sus necesidades metabólicas y nutritivas, y satisfacer la sensación de hambre. En la actualidad, se presta una mayor atención a la potencialidad de ciertos alimentos para promover la salud, mejorar el bienestar físico y reducir el riesgo de contraer enfermedades. Así, el concepto de *nutrición adecuada* tiende a ser sustituido por el de *nutrición óptima*, en cuyo ámbito aparecen los *alimentos funcionales*, denominación no muy acertada, pues a juicio de Palou y Serra (2000) todos los alimentos y sus componentes tienen una función.

Un alimento puede ser considerado funcional si se ha demostrado suficientemente que afecta de forma beneficiosa (más allá de proporcionar una nutrición adecuada desde el punto de vista tradicional) a una o varias funciones relevantes del organismo, de manera que proporciona un mejor estado de salud y bienestar y/o reduce el riesgo de padecer enfermedad (Roberfroid 1995). Un alimento funcional puede ser un alimento natural o modificado (alterando, añadiendo o eliminando uno o varios de sus componentes) o una combinación de ambos. Además, puede ser funcional para la población en general o para grupos particulares de la población, definidos por sus características genéticas, sexo, edad o por otros factores. La legislación existente en la Unión Europea que regula a los nuevos alimentos y alimentos funcionales, se recoge en el *Reglamento (CE) n° 258/97 del Parlamento Europeo y del Consejo sobre nuevos alimentos y nuevos ingredientes alimentarios*.

El desarrollo de alimentos funcionales constituye una oportunidad real de contribuir a la mejora de la calidad de la dieta y a la selección

de alimentos que pueden afectar de forma positiva a la salud y al bienestar del consumidor. En este sentido, la perspectiva europea difiere de la norteamericana, ya que considera los alimentos funcionales como *nutraceúticos* o *farmalimentos*. Así pues, el concepto de alimento funcional incluye que, estos han de ser componentes habituales de la dieta, deben ejercer sus efectos en las cantidades que son consumidas normalmente en una dieta equilibrada, y por tanto se excluye como tales a las píldoras, cápsulas y tabletas (Diplock *et al.* 1999; Milner 2000).

Son numerosas las sustancias que han sido descritas como alimentos funcionales, los fitosteroles y vitamina E, probióticos (bacterias de los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*), prebióticos (inulina y oligofructosa) y simbióticos (adición conjunta de probióticos y prebióticos en un mismo alimento), licopeno, polifenoles e isoflavonas. Sin embargo, cabría destacar la importancia de los oligosacáridos no digeribles (OND) como firmes candidatos a ser incluidas en esta categoría. A pesar de que los OND se encuentran como componentes naturales en muchos alimentos comunes como la fruta, legumbres, leche y miel, durante la pasada década su popularidad como ingredientes alimenticios ha aumentado rápidamente, particularmente en Japón y Europa (Sako *et al.* 1999). En 1991 el gobierno japonés introdujo y legisló el concepto de alimentos para usos específicos en el fomento de la salud (*Foods for Specified Health Use*, FOSHU) que incluía a doce clases de ingredientes como favorecedores de la salud, entre los que se incluyeron a los fructooligosacáridos (FOS), galactooligosacáridos (GOS), sojaoligosacáridos (SOS) y palatinosaoligosacáridos. En 1996 la lista de FOSHU incluía un total de 58 alimentos aprobados, de los cuales treinta y cuatro reúnen a oligosacáridos como ingredientes funcionales, incluyendo a la lactulosa, lactosucrosa, xilooligosacáridos (XOS) e isomaltoligosacáridos (Crittenden y Playne 1996). En Europa hay dos clases de OND que

se usan ampliamente, los FOS (incluida la inulina) y los  $\beta$ -GOS (Salminen *et al.* 1998; Sako *et al.* 1999).

### DEFINICIÓN Y CRITERIOS QUE DEBE CUMPLIR UN PREBIÓTICO

Un prebiótico es un ingrediente alimenticio no digerible que afecta de forma beneficiosa a quien lo consume mediante la estimulación selectiva del crecimiento y/o actividad de uno o un número limitado de bacterias en el colon, mejorando así la salud del hospedador (Gibson y Roberfroid 1995). Para que un ingrediente alimenticio sea clasificado como prebiótico debe cumplir según Gibson (1999) los siguientes requisitos:

1. No debe ser hidrolizado ni absorbido en la parte anterior del tracto gastrointestinal.
2. Constituir un substrato selectivo para una o un número limitado de bacterias comensales beneficiosas del colon, estimulando su crecimiento y/o metabolismo.
3. Modificar la composición de la flora del colon, facilitando el desarrollo de especies beneficiosas.
4. Inducir efectos en lumen o sistémicos que sean beneficiosos para la salud del individuo que los consuma.

Los hidratos de carbono no digeribles (oligosacáridos y polisacáridos), algunos péptidos y proteínas, y ciertos lípidos (ésteres y éteres) son considerados como prebióticos. Debido a su estructura química, estos compuestos no son absorbidos en la parte anterior del tracto gastrointestinal o no son hidrolizados por las enzimas digestivas humanas. Estos compuestos se podrían llamar «alimentos del colon», puesto que entran en el colon y sirven como substratos para las bacterias endógenas del mismo, así indirectamente proporcionan al organismo energía, substratos metabólicos y micronutrientes esenciales (Gibson y Roberfroid 1995).

En términos prácticos, los prebióticos tienen algunas ventajas sobre los probióticos, el otro gran grupo de alimentos funcionales. Claramente, la supervivencia del producto no es algo cuestionable, ya que el alimento puede ser expuesto al calor (esto no es posible con microorganismos vivos) y el tipo de vehículo de la dieta es muy amplio. Además, los problemas que se pueden experimentar tras la ingestión de probióticos no deberían de aparecer con el empleo de prebióticos ya que el objetivo es el fortalecimiento de la propia flora autóctona (Gibson y McCartney 1998).

### CLASIFICACIÓN Y PROPIEDADES DE LOS OLIGOSACÁRIDOS

Los hidratos de carbono no sirven simplemente como fuente de energía, sino que debido a la estructura física de la pared celular de la que forman parte tienen efecto sobre la saciedad del individuo (Blundell *et al.* 1994). Además, la proporción y extensión de la digestión del almidón, es el principal factor de control sanguíneo de glucosa e insulina (Englyst *et al.* 1996). Los hidratos de carbono se pueden clasificar según el grado de polimerización (GP) como oligosacáridos (GP entre 2 y 10 unidades de monosacáridos) y polisacáridos (GP más de 10 monosacáridos) tal y como indica la terminología de la IUB-IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) (1982), aunque no exista ninguna razón fisiológica o química que justifique esta división (Cummings *et al.* 1997). Al mismo tiempo, según sus propiedades fisiológicas se pueden clasificar como digeribles o no digeribles (o no disponibles). Los no digeribles que están representados por el almidón resistente, polisacáridos no almidón (polisacáridos de las paredes celulares de las plantas, hemicelulosa, pectinas, gomas), y los OND (Delzenne y Roberfroid 1994), muestran varios efectos fisiológicos y nutricionales. Sin embargo, no todos los compuestos que están clasificados como «alimentos del colon» son prebióticos. De he-

Cuadro 1. Clasificación de los principales hidratos de carbono de la dieta

Clases (GP)	Subgrupos (tipo de monosacárido y uniones $\alpha$ ó $\beta$ )
Azúcares (1-2)	Monosacáridos: fructosa, galactosa, glucosa, manosa, sorbosa, xilosa Disacáridos: celobiosa, gentibiosa, lactosa, maltosa, melibiosa, sacarosa, trehalosa Polialcoholes: sorbitol, maltitol, lactitol, xilitol
Oligosacáridos (3-10)	Maltooligosacáridos ( $\alpha$ -glucanos) Otros oligosacáridos ( $\beta$ -OND): fructooligosacáridos, galactooligosacáridos, rafinosa, estaquiosa
Polisacáridos (>10)	Almidón ( $\alpha$ -glucanos): amilopectina, amilosa Polisacáridos no almidón: celulosa, hemicelulosa, pectinas, gomas, mucílagos, $\beta$ -glucanos

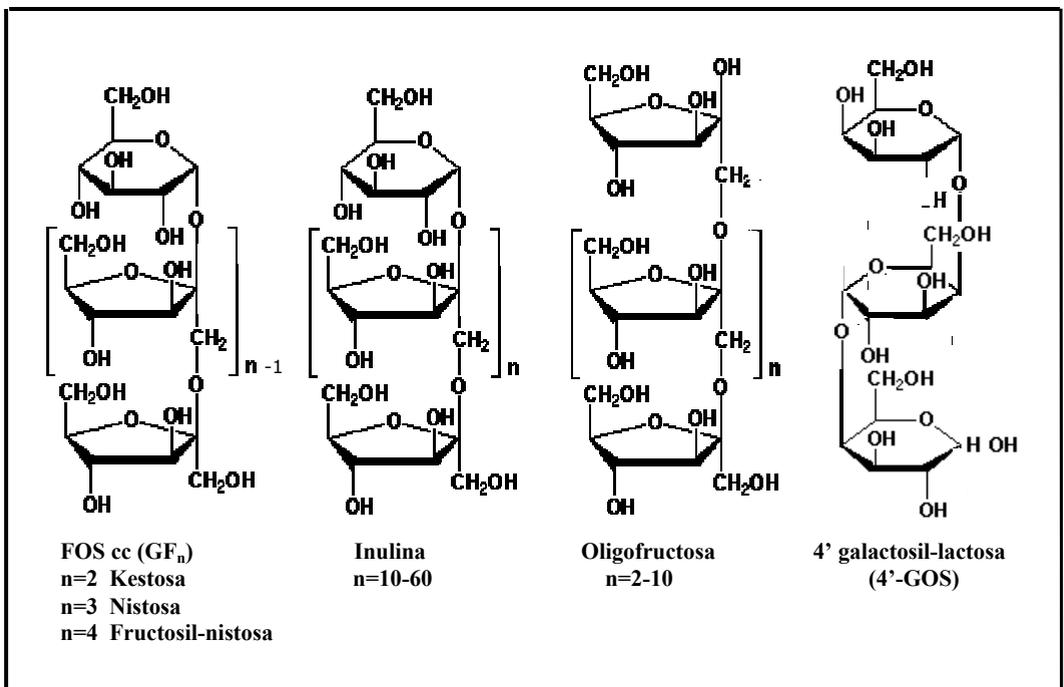


Figura 1. Estructura química de los principales oligosacáridos empleados en nutrición humana

cho, para la mayoría de estas sustancias, el proceso de fermentación en el colon no está bien especificado, y pueden además estimular en el colon el crecimiento y/o la actividad metabólica de diferentes especies bacterianas, incluyendo especies que son tanto perjudiciales como beneficiosas (Wang y Gibson 1993).

Englyst y Hudson propusieron en 1996 el nombre de «hidratos de carbono de cadena corta» para un nuevo grupo de hidratos de carbono alimenticios que incluía a los oligosacáridos y los polisacáridos más pequeños. Para propósitos analíticos, la solubilidad en etanol al 80% (v/v) ha sido validada como una forma práctica de aislar a este grupo de hidratos de carbono (Englyst y Hudson 1996; Cummings *et al.* 1997). Para una mejor comprensión, en la Cuadro 1 se muestra la clasificación de los principales hidratos de carbono de la dieta (Cummings y Englyst 1995; Englyst y Hudson 1996).

El concepto de OND se debe a de que el átomo de C anomérico (C<sub>1</sub> ó C<sub>2</sub>) de las unidades de monosacáridos de algunos oligosacáridos dietéticos (Figura 1), tiene una configuración que hace a sus enlaces osídicos no digeribles por la actividad hidrolítica de las enzimas digestivas humanas. Esta resistencia a la digestión ha sido demostrada en varios ensayos, incluyendo voluntarios humanos ileostomizados. Las principales categorías de oligosacáridos actualmente disponibles o en desarrollo como ingredientes alimenticios incluyen a hidratos de carbono en los que la unidad de monosacárido es fructosa, galactosa, glucosa, y/o xilosa (Delzenne y Roberfroid 1994; Crittenden y Playne 1996).

Junto a las propiedades de los oligosacáridos enumeradas anteriormente hay que destacar que son solubles en agua y medianamente dulces, normalmente 0,3-0,6 veces tan dulce como la sacarosa, aunque esta propiedad decrece con la longitud de la cadena. Además, debido a la fermentación del colon, dan una contribución energética al alimento de 1,5 kcal/g, similar al de la fibra dietética soluble. Los OND proporcionan una elevada capacidad de retención de

humedad, previniendo una excesiva desecación, y una baja actividad agua, que es conveniente en el control de la contaminación microbiana (Nakakuki 1993).

## TIPOS DE OLIGOSACÁRIDOS

Como anteriormente se ha descrito, los OND se encuentran en diferentes alimentos de forma natural, sin embargo también pueden ser producidos mediante diferentes reacciones químicas en el laboratorio. Principalmente existen 3 métodos para elaborar los OND como a continuación se resume:

1. Mediante la extracción directa en agua caliente de diferentes raíces, como la chicoria o alcachofa de Jerusalén para extraer la inulina, o de semillas para la obtención de los SOS.
2. Hidrólisis enzimática parcial de OND, como en la obtención de oligofruktosa a partir del hidrolizado de la inulina (De Bruyn *et al.* 1992), o de polisacáridos para obtener los XOS por la acción de xilanasa sobre los xilanopolisacáridos (Yamaguchi *et al.* 1994).
3. Síntesis enzimática de un disacárido o de una mezcla de disacáridos usando osiltransferasas, como la obtención de FOS de cadena corta (FOS cc) a partir de la sacarosa (Spiegel *et al.* 1994), los GOS a partir de la lactosa y la lactosucrosa a partir de una mezcla de sacarosa y lactosa (Yamaguchi *et al.* 1994).

El organismo humano carece de los enzimas digestivos necesarios para poder hidrolizar los OND, puesto que éstas,  $\alpha$ -glucosidasa, maltasaisomaltasa y sucrasa, son en su mayor parte específicas de uniones  $\alpha$ -osídicas. Debido a que las enzimas no pueden romper el enlace glucosídico  $\beta$ , los OND a nivel nutritivo se comportan como fibras alimentarias solubles, ya que llegan íntegros al intestino grueso donde son fermentados por la flora del colon (Tokunaga *et*

Cuadro 2. Nombre y estructura química de los oligosacáridos

Nombre	Nombre comercial	Estructura química y tipo de enlace osídico
Inulina	Raftiline®	$\alpha$ -D-Glu (1→2)-[ $\beta$ -D-Fru] <sub>n</sub> -(1→2) $\beta$ -D-Fru (n=10→60)
Oligofructosa	Raftilose®	$\beta$ -D-Fru (1→2)-[ $\beta$ -D-Fru] <sub>n</sub> -(1→2) $\beta$ -D-Fru (n=2→10)
Fructooligosacáridos de cadena corta	Actilight®, Neosugar®	$\alpha$ -D-Glu (1→2)-[ $\beta$ -D-Fru] <sub>n</sub> -(1→2) $\beta$ -D-Fru (n=1→3)
Galactooligosacáridos	Oligomate®	$\alpha$ -D-Gal (1→6)-[ $\beta$ -D-Gal] <sub>n</sub> -(1→4) $\beta$ -D-Glu (n=1v5)
Galactotriosa/TOS	Cup-Oligo®	$\alpha$ -D-Gal (1→6)-[ $\beta$ -D-Gal] <sub>n</sub> (n=2)
Isomaltooligosacáridos	Isomalto-900®	[ $\alpha$ -D-Glu (1→6)] <sub>n</sub> (n=2→5)
Sojaoligosacáridos	Soya-Oligo®	[ $\alpha$ -D-Gal (1→6)] <sub>n</sub> - $\alpha$ -D-Glu-(1→2) $\beta$ -D-Fru (n=1→3)
Xilooligosacáridos	-	[ $\beta$ -D-Xyl-(1→4)] <sub>n</sub> (n=2→9)
Gentiooligosacáridos	Gentose®	[ $\beta$ -D-Glu-(1→6)] <sub>n</sub> (n=2→5)
Lactulosa	Duphalac®	$\beta$ -D-Gal-(1→4)-b-D-Fru
Lactosucrosa	-	$\beta$ -D-Gal-(1→4)- $\alpha$ -D-Glu (1→2)- $\beta$ -D-Fru
Celobiosa	-	$\beta$ -D-Glu (1→4)-D-Glu
Celodextrinas	-	[ $\beta$ -D-Glu (1→4)] <sub>n</sub> -D-Glu (n=3-6)
Ciclodextrinas	Dexy Pearl®	[ $\alpha$ -D-Glu (1→4)] <sub>n</sub> cíclico (n=6-12)
Glucanooligosacáridos	-	-
Leucrosa	-	$\alpha$ -D-Glu (1→5)-D-Fru
Maltitol	-	$\alpha$ -D-Glu (1→6)-D-Sor
Palatinosaoligosacáridos	-	[ $\alpha$ -D-Glu (1→6)-D-Fru] <sub>n</sub> (n=2-4)
Lactitol	-	$\beta$ -D-Gal (1→4)-D-Sor
Maltooligosacáridos	-	[ $\alpha$ -D-Glu (1→4)] <sub>n</sub> (n=2→7)
Manooligosacáridos	Alltech®	[ $\alpha$ -D-Man (1→6)] <sub>n</sub> (n=2→8)
Glucosilucrosa	Coupling Sugar®	$\alpha$ -D-Glu (1→4)- $\alpha$ -D-Glu (1→2)-b-D-Fru
Glucooligosacáridos	-	[ $\alpha$ -D-Glu] <sub>n</sub> (n=2-6)

Fru=Fructosa, Gal=Galactosa, Glu=Glucosa, Man=Manosa, Sor=Sorbitol, Xyl=Xilosa  
 Adaptado de Delzenne y Roberfroid (1994) y Crittenden y Playne (1996)

al. 1989; Molis *et al.* 1996). En la Figura 2 se representan esquemáticamente los diferentes procesos de producción de los oligosacáridos, y en la Cuadro 2 se muestran los oligosacáridos encontrados en la bibliografía científica como candidatos a ejercer un efecto prebiótico.

Sin embargo, no todos los compuestos listados en el Cuadro 2 han demostrado científicamente su capacidad como prebiótico, debido en parte a su digestión total o parcial por las enzimas del intestino delgado humano, por la imposibilidad de promover una fermentación selecti-

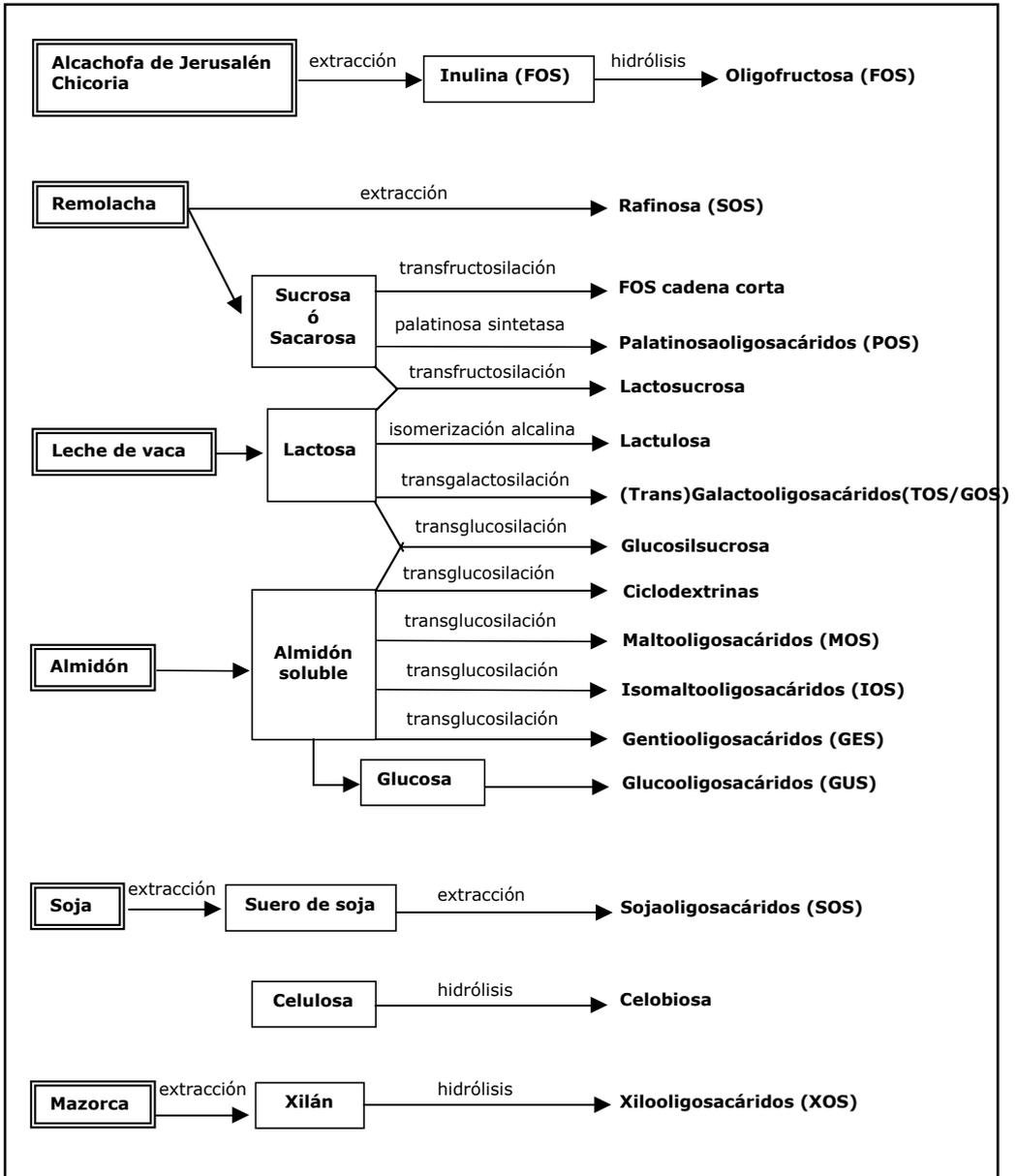


Figura 2. Esquema que representa los procesos de producción de los oligosacáridos.

va en el colon y por la falta de estudios concluyentes. Por tanto el número de OND reales se reduce a los siguientes: FOS, GOS y SOS, que por otra parte han sido los más extensamente

estudiados y pueden proporcionar la mejor evidencia de los efectos prebióticos en humanos (Crittenden y Playne 1996), y son los que a continuación se describen.

*Galactooligosacáridos (GOS)*. El establecimiento de una microflora de bifidobacterias en el intestino de los niños alimentados a pecho se ha atribuido a la presencia de OND que contienen galactosa en la leche humana (Smart 1993). Por tanto, la inclusión de GOS como ingredientes alimenticios prebióticos ha atraído un interés comercial considerable, y varias empresas están actualmente implicadas en su producción. Los GOS se producen por la acción de las  $\beta$ -galactosidasas con actividad de transgalactosilación. Las uniones glicosídicas entre dos unidades de galactosa principalmente son uniones del tipo  $\beta(1-4)$  (como 4'-galactosil-lactosa, 4'-GOS) cuando se usan las  $\beta$ -galactosidasas derivadas de *Bacillus circulans* (Mozaffar *et al.* 1984) o de *Cryptococcus laurentii* (Ozawa *et al.* 1989), y del tipo  $\beta(1-6)$  (como 6'-galactosil-lactosa, 6'-GOS) cuando se usan las enzimas derivadas de *A. oryzae* o *Streptococcus thermophilus* (Matsumoto 1990). Normalmente más del 55% de la lactosa que se emplea como sustrato se convierte en GOS (Ishikawa *et al.* 1995).

*Fructooligosacáridos (FOS)*. Es uno de los principales OND bifidogénicos en cuanto a volumen de producción. Se elaboran mediante 2 procesos, que resultan en productos finales ligeramente diferentes. En el primer método, los FOS se producen a partir del disacárido sacarosa usando la actividad transfructosilación del enzima  $\beta$ -fructofuranosidasa de *Aspergillus niger*. Al igual que sucede en la producción de GOS, se necesita una elevada concentración de material inicial para una eficaz transglucosilación (Park y Almeida 1991). Los FOS así formados contienen entre 2 y 4 unidades de fructosa unidas con enlaces  $\beta(2\rightarrow1)$ , con un residuo terminal  $\alpha$ -D-glucosa, y entre ellos cabe destacar: 1-kestosa (Glu-Fru<sub>2</sub>), 1-nistosa (Glu-Fru<sub>3</sub>) y 1<sup>F</sup>-fructosilnistosa (Glu-Fru<sub>4</sub>). Dependiendo del productor a esta mezcla de FOS cc se les ha denominado como «Actilight», «Nutraflora» ó «Meliogo». El segundo método es la hidrólisis enzimática o química de la inulina. La mezcla de FOS formada por este proceso se parece a la

mezcla producida por el proceso de transfructosilación. Sin embargo, no todas las cadenas fructosa con uniones  $\beta(2\rightarrow1)$  acaban en una glucosa terminal (Fru<sub>m</sub>, m=1-7). A este producto se le conoce como oligofructosa.

*Sojaoligosacáridos (SOS)*. Son extraídos directamente del alimento crudo y no requieren procesos enzimáticos de elaboración. El suero de la soja, un producto de la producción de concentrados y aislados de proteínas de soja, contiene oligosacáridos rafinosa (formado por fructosa, galactosa y glucosa) y estaquiosa, ésta última tiene un residuo de galactosa más. Ambos son indigeribles y por tanto alcanzan el colon intactos, donde actúan como prebióticos, estimulando el crecimiento de las bifidobacterias en el hombre (Benno *et al.* 1987).

### **EFEECTO FISIOLÓGICO DE LOS OLIGOSACÁRIDOS NO DIGERIBLES (OND) A NIVEL GASTROINTESTINAL Y SISTÉMICO**

Los OND más ampliamente estudiados son los FOS y los GOS y por tanto los efectos a nivel gastrointestinal y sistémico que continuación se describen se refieren a estos 2 grupos.

*Actividad bifidogénica*. Este efecto se refiere a la estimulación selectiva de un grupo limitado de bacterias beneficiosas (principalmente bifidobacterias y lactobacilos) en el colon humano. Como consecuencia de la fermentación de los OND en el colon y el descenso de pH de su contenido se ha observado igualmente un descenso de otros géneros bacterianos (perjudiciales). Así, el empleo de TOS en humanos a la concentración de 10 y 15 g/día (Bouhnik *et al.* 1997; Ito *et al.* 1993) produjo un incremento de las bifidobacterias fecales, mientras que las enterobacterias no se vieron afectadas y descendió el número de bacteroides y clostridios, respectivamente. También se ha descrito actividad bifidogénica mediante el empleo de inulina, sin observar cambios en otros grupos bacterianos excepto un descenso del género Bacteroides (Gibson *et al.* 1995; Kleessen *et al.* 1997). Por

último el número de estudios referidos al uso de oligofructosa como OND con capacidad bifidogénica es mayor (Mitsuoka *et al.* 1987; Gibson *et al.* 1995; Bouhnik *et al.* 1996).

*Producción de ácidos grasos de cadena corta y efectos asociados.* La fermentación en el colon de OND produce ácidos grasos de cadena corta (AGCC), tales como acético, propiónico y butírico, lactato y determinados gases ( $H_2$  y  $CO_2$ ). Todos los hidratos de carbono que son fermentados en el colon humano deberían dar un valor calórico de 1,5 kcal/g (6,3 KJ/g) (Cummins y Frohlich 1993). Para la inulina y oligofructosa los valores publicados de producción de AGCC varían entre 1 y 2,1 kcal/g (4,2 a 8,8 KJ/g) (Roberfroid *et al.* 1993; Molis *et al.* 1996). Para los GOS el valor calórico está calculado en 1,73 kcal/g de acuerdo con el método estandarizado en Japón (Sako *et al.* 1999).

De estudios *in vivo* en animales se puede concluir que el enriquecimiento con OND desciende el pH cecal e incrementa la producción de AGCC cecales, siendo el acetato el principal seguido por el butirato y propionato (Ito *et al.* 1993; Rowland y Tanaka 1993; Campbell *et al.* 1997). Este incremento en la producción de AGCC está relacionado con un descenso en el pH luminal, una hiperplasia de la mucosa intestinal, incremento del grosor de la pared tanto en el intestino delgado como en el ciego (Campbell *et al.* 1997; Chonan *et al.* 1995; Kikuchi *et al.* 1996) y la motilidad intestinal (Cummins 1981).

*Efecto sobre el número (o frecuencia) de deposiciones.* En distintos estudios se ha demostrado que la administración de GOS tiene efectos beneficiosos sobre individuos afectados de estreñimiento (Narimiya *et al.* 1996; Deguchi, *et al.* 1997). En el estudio de Deguchi *et al.* (1997), los sujetos mejoraron la frecuencia de la defecación cuando ingirieron diariamente durante una semana 5 g de GOS. El motivo que justifica este hecho puede estar basado en la producción de AGCC, contribuyendo al incremento de la presión osmótica y a la estimulación del peristaltismo (Ishikawa *et al.* 1995).

Tanto en estudios con animales (Roberfroid *et al.* 1993) como con voluntarios humanos (Gibson *et al.* 1995) el empleo de FOS se acompañó de un incremento en el peso de las deposiciones fecales. Lo que se correspondió con una mayor peso fresco de las heces (1-1,5 g por g de FOS).

*Prevención del cáncer de colon.* Se ha sugerido que varias enzimas bacterianas, tales como  $\beta$ -glucuronidasa,  $\beta$ -glucosidasa y nitroreductasa, podrían jugar un papel importante en la carcinogénesis del colon convirtiendo pre-carcinógenos en carcinógenos (Rowland 1988). En un estudio (Rowland y Tanaka 1993) con ratas con flora humana asociada, la administración de 5% GOS, produjo un incremento en la concentración cecal de anaerobios totales, lactobacilos y bifidobacterias así como un descenso en el número de enterobacterias. También se redujo significativamente el pH cecal tras la ingestión de GOS, así como la actividad de  $\beta$ -glucuronidasa y nitroreductasa. Únicamente se ha observado alguna evidencia con los FOS con experimentos con animales. Así en 2 estudios (Reddy *et al.* 1997; Rowland *et al.* 1998) se observó que en el grupo alimentado con inulina y oligofructosa, tras la inyección de azoximetano se observó una reducción significativa del número de focos de criptas aberrantes en el colon. Una explicación a la prevención del cáncer de colon, es la descrita por Tanaka *et al.* (1990). De tal forma que el butirato producido en la fermentación de los OND, además de ser la principal fuente de energía de las células epiteliales del colon, y a bajas concentraciones puede actuar como regulador de la expresión de genes involucrados en la proliferación y diferenciación de los colonocitos de los mamíferos, así como de las células del carcinoma de colon.

*Efecto sobre la glucemia e insulinemia.* Este efecto ha sido descrito fundamentalmente para los FOS. Aunque el mecanismo por el que se producen dichos efectos y los datos existentes son a veces contradictorios, se ha descrito que la administración crónica de oligofructosa (20 g al día durante 4 semanas) no modificó los valores

plasmáticos de glucosa e insulina en ayunas de voluntarios sanos humanos (Luo *et al.* 1996). Sin embargo, en individuos diabéticos la ingestión de 8 g/d de oligofruktosa durante 14 días descendió los valores de glucosa (Yamashita *et al.* 1984).

*Efecto sobre el metabolismo de los lípidos.*

La mayoría de los estudios que muestran efectos de los OND sobre los lípidos sanguíneos, tanto en animales como en humanos han sido realizados con FOS.

Ha sido descrito un descenso de los niveles de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y colesterol total en individuos con diabetes no insulino-dependiente mediante el empleo de oligofruktosa (Yamashita *et al.* 1984; Luo *et al.* 1996), y de triglicéridos y colesterol total con inulina (Canzi *et al.* 1995), mientras que el empleo de inulina en voluntarios hiperlipidémicos ha mostrado un descenso de los triglicéridos (Williams 1999) y del colesterol y LDL (Davidson *et al.* 1998). Sin embargo, cuando los estudios se llevaron a cabo en individuos sanos y normolipidémicos no se observó ningún efecto sobre los niveles lipídicos tras la administración de inulina, oligofruktosa o transgalactooligosacáridos (TOS) (Van Dokkum *et al.* 1995; Pedersen *et al.* 1997; Ellegård *et al.* 1997). Los estudios realizados con animales (ratas) son más numerosos y muestran que la administración de inulina y oligofruktosa desciende los niveles de triglicéridos séricos, colesterol total y fosfolípidos, pero no los niveles de ácidos grasos libres (Hata *et al.* 1983; Tokunaga *et al.* 1986; Fiordaliso *et al.* 1995).

*Efecto sobre la uremia y eliminación de nitrógeno (N)/amoníaco.* Los mecanismos que están bajo este efecto probablemente se deban al incremento de las bifidobacterias y al descenso de ciertas bacterias autóctonas tales como *Bacteroides* que tienen potencial para producir amoníaco (NH<sub>3</sub>), además Deguchi *et al.* (1997) demostraron que algunas bifidobacterias tienen la habilidad de asimilar NH<sub>3</sub> como fuente de N. En un estudio con personas sanas, la ingestión de 3 g/día de 4'-GOS redujo significativamente

la concentración fecal de NH<sub>3</sub> (Tamai *et al.* 1992). En estudios con ratas, los FOS cc incrementan eficazmente la excreción fecal de N y reducen la excreción renal de N (Younes *et al.* 1996). Este efecto ocurre porque los FOS sirven como fuente de energía para las bacterias intestinales, que durante el crecimiento también requieren de una fuente de N para la síntesis proteica. De hecho, la cantidad de NH<sub>3</sub> requerido para sustentar el crecimiento del máximo de bacterias podría llegar a ser insuficiente, y la urea en sangre sería entonces requerida como una fuente fácil para la síntesis proteica bacteriana en el ciego (Younes *et al.* 1997). En estudios con voluntarios sanos el consumo de 3 g de 4'-GOS al día redujo significativamente la concentración fecal de amonio (Tamai *et al.* 1992). En otro estudio con pacientes con hiperamonemia asociada con cirrosis hepática, la administración de 6'-GOS junto a *B. breve* redujo gradualmente los niveles sanguíneos de amonio hasta valores normales en 4 semanas (Matsumoto *et al.* 1990).

*Efecto sobre la absorción mineral.* En un estudio con voluntarios ileostomizados la ingestión de inulina y oligofruktosa no modificó el tránsito de Ca, Mg, Zn y Fe desde el íleon hacia el colon, sugiriendo que la absorción mineral tiene lugar en el colon (Ellegård *et al.* 1997). Van Dokkum *et al.* (1995) mediante una técnica de isótopos estables, no observaron ningún efecto de los OND sobre la absorción mineral en hombres jóvenes tras la toma de 15 g de inulina, oligofruktosa o GOS al día durante 3 semanas, debido según los autores al corto periodo de tiempo (24 h) en la recogida de las muestras. En un estudio posterior, las muestras fueron recogidas a las 36 h de la administración del isótopo, se observó un incremento significativo (p<0,05) en la absorción de Ca con el empleo de oligofruktosa (van den Heuvel *et al.* 1999b). Coudray *et al.* (1997) también observaron un incremento significativo (p<0,01) en la absorción de Ca en voluntarios que tomaron inulina durante 4 semanas, sin embargo no se muestra-

ron efectos en la absorción de Mg, Fe y Zn. van den Heuvel *et al.* (1999a) investigaron la absorción de Ca en un estudio con mujeres postmenopáusicas, observando una diferencia significativa ( $p < 0,01$ ) en la absorción entre el grupo control y el alimentado con 10 g de lactulosa. Un estudio reciente (Abrams y Griffin 2001) con una dieta relativamente alta en Ca (1.500 mg/día), y con consumo de inulina y oligofruktosa durante 3 semanas, reveló un incremento del 18% en la fracción real de la absorción de Ca y un incremento absoluto del Ca absorbido de 90 mg/día.

En los humanos se sabe que los minerales como el Ca, P y Mg además de en el intestino delgado, también se absorben de forma efectiva desde el colon (Sellin *et al.* 1984; Colette *et al.* 1986). Varios son los estudios que demuestran que los OND (oligofruktosa, TGOS, inulina y GOS) alcanzan el colon intactos (Alles *et al.* 1997; Bouhnik *et al.* 1997) y allí son fermentados de forma específica por las bifidobacterias del colon, aumentando su número en las muestras fecales, sin modificar el pH fecal y el recuento de otros géneros bacterianos como las enterobacterias (Bouhnik *et al.* 1997; Kleessen *et al.* 1997), o por el contrario disminuyendo el número de bacteroides y clostridios (Ito *et al.* 1993; Gibson *et al.* 1995). Sin embargo, otros autores (Scholz-Ahrens *et al.* 2001) consideran todavía escasas las evidencias de esta especificidad, y proponen que el principal efecto de los prebióticos responsable de la mayor absorción mineral en humanos está relacionado con su efecto como «alimentos del colon». Es decir, que ésta sirve como sustrato para la flora intestinal de una forma inespecífica pero que podría estimular la tasa de fermentación, producción de AGCC y acidificación luminal. Sin embargo, y como se ha mencionado anteriormente no se ha encontrado un claro efecto de los OND sobre el pH fecal y concentración o proporción de AGCC. Esta falta de relación clara podría explicar parcialmente la menor estimulación de la absorción mineral por estas sustancias en los

humanos con relación a los animales. Los numerosos estudios realizados con ratas concluyen que la administración de FOS y GOS estimula la absorción de Ca, Mg y Fe (Ohta *et al.* 1995; Chonan y Takahashi 1999; Chonan *et al.* 2001; Scholz-Ahrens *et al.* 2001). Otra explicación que dan Scholz-Ahrens *et al.* (2001) es la corta duración de los estudios en humanos, haciendo imposible extrapolar a corto plazo los efectos de los OND en la absorción mineral sobre el desarrollo del esqueleto o salud del hueso, por lo que se requieren estudios a más largo plazo.

Otro aspecto que tampoco está claro en el hombre es que el efecto dosis-dependiente de los prebióticos sobre la absorción de algunos minerales pueda estar relacionado con la capacidad estimulante sobre las bifidobacterias del sustrato. Así, Roberfroid *et al.* (1998) concluyeron que aunque no había relación dosis-efecto en el rango de 4 a 20 g/día de inulina y oligofruktosa, esta cantidad era suficiente para estimular el crecimiento de estas bacterias. Hasta ahora no está claro si existe un efecto dosis-dependiente de los prebióticos sobre la absorción mineral asociada con un efecto dosis-dependiente en el crecimiento de bifidobacterias. No obstante, una variable que se puede correlacionar con estos incrementos es el número inicial de bifidobacterias en heces, independientemente de la dosis de los FOS, ya que se ha observado que cuando el número inicial de bifidobacterias es más bajo se produce el mayor incremento de estas bacterias cualquiera que sea la dosis diaria de FOS empleada (Roberfroid y Delzenne 1998).

## BIBLIOGRAFÍA

Abrams S.A., Griffin I.J. 2001. Inulin and oligofruktose and calcium absorption: Human data. En: Proceedings of the 3<sup>rd</sup> ORAFI Research Conference: Recent scientific research on inulin and oligofruktose. Orafi active food ingredient. Belgium, pp 26-27.

- Alles M.S., Katan M.B., Salemans J.M., Van Laere K.M., Gerichhausen M.J., Rozendaal M.J., Nagengast F.M. 1997. Bacterial fermentation of fructooligosaccharides and resistant starch in patients with an ileal pouch-anal anastomosis. *Am. J. Clin. Nutr.* 66: 1286-1292.
- Benno Y., Endo K., Shiragami N., Sayama K., Mitsuoka T. 1987. Effects of raffinose intake on the human fecal microflora. *Bif. Micr.* 6: 59-63.
- Blundell J.E., Green S., Burley V.J. 1994. Carbohydrates and human appetite. *Am. J. Clin. Nutr.* 59(Suppl.3): 728S-734S.
- Bouhnik Y., Flourie B.L., Andrieux C., Bisetti N., Briet F., Rambaud J.C. 1996. Effects of *Bifidobacterium* sp fermented milk ingestion with or without inulin on colonic bifidobacteria and enzymatic activities in healthy humans. *Eur. J. Clin. Nutr.* 50: 269-273.
- Bouhnik Y., Flourie B.L., D'agay-abensour P., Pochart G., Gramet M., Durand M., Rambaud J.C. 1997. Administration of transgalactooligosaccharides increases fecal bifidobacteria and modifies colonic fermentation metabolism in healthy humans. *J. Nutr.* 127: 444-448.
- Campbell J.M., Fahey G.C., Wolf B.W. 1997. Selected indigestible oligosaccharides affect large bowel mass, cecal and fecal short-chain fatty acids, pH and microflora in rats. *J. Nutr.* 127: 130-136.
- Canzi E., Brighenti F., Casighari M.C., Del Puppo E., Ferrari A. 1995. Prolonged consumption of inulin in ready-to-eat breakfast cereals: effects on intestinal ecosystem, bowel habits and lipid metabolism. *Cost 92, workshop on dietary fiber and fermentation in the colon.* Helsinki, April, pp 15-17.
- Colette C., Gouttebel M.C., Monnier L.H., Saintaubert B., Joyeux H. 1986. Calcium absorption following small bowel resection in man. Evidence for an adaptative response. *Eur. J. Clin. Invest.* 16: 271-276.
- Coudray C., Bellange J., Castiglia-delahaut C., Rémésy C., Vermorel M., Demigné C. 1997. Effect of soluble and partly soluble dietary fibres supplementation on absorption and balance of calcium, magnesium, iron and zinc in healthy young men. *Eur. J. Clin. Nutr.* 51: 375-380.
- Crittenden R.G., Playne M.J. 1996. Production, properties, and applications of food-grade oligosaccharides. *Trends Food Sci. Technol.* 7: 353-361.
- Cummings J.H. 1981. Short chain fatty acids in the human colon. *Gut.* 22: 763-779.
- Cummings J.H., Frohlich W. 1993. Dietary fiber intakes in Europe: an overview. *Commission of the European Community-DGXII-COST 92.*
- Cummings J.H., Englyst H.N. 1995. Gastrointestinal effects of food carbohydrate. *Am. J. Clin. Nutr.* 61(Suppl.): 938S-945S.
- Cummings J.H., Roberfroid M.B. and members of the Paris Carbohydrate Group, Anderson H., Barth C., Ferro-luzzi A., Ghoois Y., Gibney M., Hermons K., James W.P.T., Korver O., Lairon D., Pascal G., Voragen A.G.S. 1997. A new look at dietary carbohydrate: chemistry, physiology and health. *Eur. J. Clin. Nutr.* 51: 417-423.
- Chonan O., Matsumoto K., Watanuki M. 1995. Effect of galactooligosaccharides on calcium absorption and preventing bone loss in ovariectomized rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 59(2): 236-239.
- Chonan O., Takahashi R. 1999.  $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4 linked galactooligosaccharides stimulate calcium and magnesium absorption from the large intestine. *Annual Report of Yakult Central Institute for Microbiological Research.* 19: 53-59.
- Chonan O., Takahashi R., Watanuki M. 2001. Role of activity of gastrointestinal microflora in absorption of calcium and magnesium in rats fed  $\beta$ 1-4 linked galactooligosaccharides. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 65(8): 1872-1875.

- Davidson M.H., Maki K.C., Synecki C., Torri S.A., Drennan K.B. 1998. Effects of dietary inulin on serum lipids in men and women with hypercholesterolemia. *Nutr. Res.* 18: 503-517.
- De Bruyn A., Álvarez A.P., Sandra P., Deleenheer L. 1992. Isolation and identification of b-D-fructosyl-(2, 1)-D-fructose, a product of the enzymatic hydrolysis of the inulin from *Chicorium intybus*. *Carbohydr. Res.* 235: 303-308.
- Deguchi Y., Matsumoto K., Ito T., Watanuki M. 1997. Effects of b1-4 galactooligosaccharides administration on defecation of healthy volunteers with constipation tendency. *Jpn. J. Nutr.* 55: 13-22.
- Delzenne N.M., Roberfroid M.B. 1994. Physiological effects of non-digestible oligosaccharides. *Lebens. M. Wiss. a. Technol.* 27: 1-6.
- Diplock A.T., Aggett P.J., Ashwell M., Bornet F., Fern E.B., Roberfroid M. 1999. Scientific concepts of functional foods in Europe: consensus document. *Br. J. Nutr.* 81 (Suppl.): 1S-27S.
- Ellegård L., Andersson H., Bosaeus I. 1997. Inulin and oligofructose do not influence the absorption of cholesterol, or the excretion of cholesterol, Ca, Mg, Zn, Fe, or bile acids but increases energy excretion in ileostomy subjects. *Eur. J. Clin. Nutr.* 51: 1-5.
- Englyst H.N., Hudson G.J. 1996. The classification and measurement of dietary carbohydrates. *Food Chem.* 57(1): 15-21.
- Englyst H.N., Veenstra J., Hudson G.J. 1996. Measurement of rapidly available glucose (RAG) in plant foods: a potential *in vitro* predictor of the glycaemic response. *Br. J. Nutr.* 75: 327-337.
- Fiordaliso M.F., 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: 163-167.
- Gibson G.R., Roberfroid M.B. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr.* 125: 1401-1412.
- Gibson G.R., Beatty E.B., Wang X., Cummings J.H. 1995. Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *Gastroenterol.* 108: 975-982.
- Gibson G.R., McCartney A.L. 1998. Modification of the gut flora by dietary means. *Biochem. Soc. Transactions.* 26: 222-228.
- Gibson G.R. 1999. Dietary modulation of the human gut microflora using the prebiotics oligofructose and inulin. *J. Nutr.* 129(Suppl.): 1438S-1441S.
- Hata Y., Hara T., Oikawa T., Yamamoto M., Hirose N., Nagashima T., Torihama N., Nakajima K., Watabe A., Yamashita M. 1983. The effects of fructooligosaccharides against hyperlipidemia. *Geriatr. Med.* 21: 156-167.
- Ishikawa F., Takayama H., Matsumoto K., Ito M., Chonan O., Deguchi Y., Kikuchi-hayakawa H., Watanuki M. 1995. Effects of b1-4 linked galactooligosaccharides on human fecal microflora. *Bifidus.* 9: 5-18.
- Ito M., Deguchi Y., Matsumoto K., Kimura M., Onodera N., Yajima T. 1993. Influence of galactooligosaccharides on the human fecal microflora. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 39: 635-640.
- IUB-IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) y JCBN (Joint Commission on Biochemical Nomenclature). 1982. Abbreviated terminology of oligosaccharide chains. Recommendations 1980. *J. Biol. Chem.* 257(7): 3347-3351.
- Kikuchi H., Andrieux C., Riottot M., Bensaada M., Popot F., Beaumatin P., Szylit O. 1996. Effect of 2 levels of transgalactosylated oligosaccharide intake in rats associated with human faecal microflora on bacterial glycolytic activity, end-products of fermentation and bacterial steroid transformation. *J. Appl. Bacteriol.* 80(4): 439-446.

- Kleessen B., Sykura B., Zunft H.J., Blaut M. 1997. Effects of inulin and lactose on faecal microflora, microbial activity, and bowel habit in elderly constipated persons. *Am. J. Clin. Nutr.* 65: 1397-1402.
- Luo J., Rizkala S., Alamowitch C., Boussairi A., Blayo A., Barry J., Laffitte A., Guyon F., Bornet F.R.J., Slama G. 1996. Chronic consumption of short-chain fructooligosaccharides by healthy subjects decreased basal glucose production but had no effect on insulin-stimulated glucose metabolism. *Am. J. Clin. Nutr.* 63: 939-945.
- Matsumoto K. 1990. Characterization and utilization of b-galactosidases from lactobacilli and bifidobacteria. *Jpn. J. Dairy Food Sci.* 39: 239-248.
- Matsumoto K, Kobayashi Y., Ueyama S., Watanabe T., Tanaka R., Kan T., Kuroda A., Sumihara Y. 1990. Galactooligosaccharides. En: *Japanese Technology Reviews* (Nakanuki T. ed.), Gordon y Breach Sci. Publishers, pp 90-106.
- Milner J.A. 2000. Functional foods: the US perspective. *Am. J. Clin. Nutr.* 71(Suppl.): 1654S-1659S.
- Mitsuoka T., Hidaka H., Eida T. 1987. Effect of fructooligosaccharides on intestinal microflora. *Die Nahrung.* 31: 426-436.
- Molis C., Flourie F., Ouarne F., Galling M.F., Lartigue S., Guibert A., Bornet F., Galmiche J.P. 1996. Digestion, excretion and energy value of fructooligosaccharides in healthy humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 64: 324-328.
- Mozaffar Z., Nakanishi K., Matsuno R., Kamikuro T. 1984. Purification and properties of b-galactosidases from *Bacillus circulans*. *Agric. Biol. Chem.* 48: 3035-3061.
- Nakakuki T. 1993. Oligosaccharides. Production, properties and applications. En: *Japanese Technology Reviews*. (Nakakuki T. edit.), Vol 2. 3. Gordon y Breach Sci. Publishers.
- Narimiya M., Yokoi K., Tajima N., Sakai O., Ikeda Y., Takayama H. 1996. The effect of b1-4 galactooligosaccharides on fecal flora in non insulin dependent diabetic patients with constipation. *Jpn. J. Clin. Nutr.* 18: 44-50.
- Ohta A., Ohtsuki M., Baba S., Takizawa T., Adachi T., Kimura S. 1995. Effects of fructooligosaccharides on the absorption of iron, calcium and magnesium in iron-deficient anemic rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 41(3): 281-291.
- Ozawa O., Ohtsuka K., Uchida R. 1989. Production of 4' galactosyllactose by mixed cells of *Cryotococcus laurentii* and baker's yeast. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi.* 36: 898-902.
- Palou A, Serra F. 2000. Perspectivas europeas sobre los alimentos funcionales. *Alimentación, Nutrición y Salud.* 7(3): 76-90.
- Park Y.K., Almeida M.M. 1991. Production of fructooligosaccharides from sucrose by a transfructosylase from *Aspergillus niger*. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 7: 331-334.
- Pedersen A., Sandström B., Van Amelsvoort J.M.M. 1997. The effect of ingestion of inulin on blood lipids and gastrointestinal symptoms in healthy females. *Br. J. Nutr.* 78: 215-222.
- Reddy D.S., Hamid R., Rao CV. 1997. Effect of dietary oligofructose and inulin on colonic preneoplastic aberrant crypt foci inhibition. *Carcinogenesis.* 18: 1371-1374.
- Reglamento (CE) N° 258/97 del Parlamento Europeo y del Consejo del 27 de enero de 1997 sobre nuevos alimentos y nuevos ingredientes alimentarios Diario Oficial de las Comunidades Europeas (DOCE). N° L 043, 14/02/97, pp 1-6. Rectificación del citado Reglamento en DOCE N° L 173, 01/07/97, 102 pp y DOCE N° L 187, 20/02/99, 74 pp.
- Roberfroid M., Gibson G.R., Delzenne N. 1993. Biochemistry of oligofructose, a non-digestible dietary fiber: an approach to calculate its caloric value. *Nutr. Rev.* 51: 137-146.
- Roberfroid M.B. 1995. A functional food: chicory fructooligosaccharides, a colonic food

- with prebiotic activity. *World of Ingredients*, March-April, 42 pp.
- Roberfroid M.B., Delzenne N.M. 1998. Dietary fructans. *Ann. Rev. Nutr.* 18: 117-143.
- Roberfroid M.B., Van Loo J.A.E., Gibson G.R. 1998. The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. *J. Nutr.* 128: 11-19.
- Rowland I.R., Tanaka R. 1993. The effects of transgalactosylated oligosaccharides on gut flora metabolism in rats associated with a human faecal microflora. *J. Appl. Bacteriol.* 74: 667-674.
- Rowland I. 1988. Interactions of the gut microflora and the host in toxicology. *Toxicol. Pathol.* 16: 147-153.
- Sako T., Matsumoto K, Tanaka R. 1999. Recent progress on research and applications of non-digestible galacto-oligosaccharides. *Int. Dairy J.* 9: 69-80.
- Salminen S., Isolauri E., Salminen E. 1996. Clinical uses of probiotics for stabilizing the gut mucosal barrier: successful strains and future challenges. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 70: 251-262.
- Scholz-ahrens K.E., Schaafsma G., Van Den Heuvel E.G.H.M., Schreuzemir J. 2001. Effects of prebiotics on mineral metabolism. *Am. J. Clin. Nutr.* 73(Suppl.): 459S-464S.
- Sellin J.H., Meredith S.C., Kelly S., Schneir H., Rosenberg I.H. 1984. Prospective evaluation of metabolic bone disease after jejunoleal bypass. *Gastroenterology.* 87: 123-129.
- Smart J.B. 1993. Transferase reactions of b-galactosidases-new product opportunities. *Bull. Int. Dairy Fed.* 289: 16-22.
- Spiegel J.E., Tose R., Karabell P., Frankos V.H., Schmitt D.F. 1994. Safety and benefits of fructooligosaccharides as food ingredients. *Food Technol.* 48(1): 85-89.
- Tamai S., Ohtsuka K., Ozawa O., Uchida T. 1992. Effect of a small amount of galactooligosaccharides on fecal *Bifidobacterium*. *J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.* 45: 456-460.
- Tanaka Y., Bush K., Eguchi T., Ikekawa N., Takaguchi T., Kobayashi Y., Higgings P.J. 1990. Effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 and its analogues on butyrate-induced differentiated phenotype. *Arch. Biochem. Biophys.* 276: 415-423.
- Tokunaga T., Oku T., Hosoya N. 1986. Influence of chronic intake of a new sweetener fructooligosaccharide (Neosugar) on growth and gastrointestinal function of the rat. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 32: 111-121.
- Tokunaga T., Oku T., Hosoya N. 1989. Utilization and excretion of a new sweetener, fructooligosaccharides, in rats. *J. Nutr.* 119: 553-559.
- Van Den Heuvel E.G.H.M., Muys T., Van Dokkum W., Schaafsma G. 1999a. Lactulose stimulates calcium absorption in postmenopausal women. *J. Bone Miner. Res.* 7: 1211-1216.
- Van Den Heuvel E.G.H.M., Muys T., Van Dokkum W., Schaafsma G. 1999b. Oligofructose stimulates calcium absorption in adolescents. *Am. J. Clin. Nutr.* 69: 544-548.
- Van Dokkum W., Van Den Heuvel E.G.H.M., Havenaar R., Srikumar T.S., Van Aken P., Wezendonk B. 1995. The effect of non digestible oligosaccharides (NDO) on human physiology. Report TNO. Zeist. The Netherlands.
- Wang X., Gibson G.R. 1993. Effects of the *in vitro* fermentation of oligofructose and inulin by bacteria growing in the human large intestine. *J. Appl. Bacteriol.* 75: 373-380.
- Williams C.M. 1999. Effects of inulin on lipid parameters in humans. *J. Nutr.* 129(Suppl.7): 1471S-1473S.
- Yamaguchi F., Shimizu N., Hatanaka C. 1994. Preparation and physiological effect of low-molecular-weight pectin. *Biosci. Biotech. Biochem.* 58: 679.
- Yamashita K., Kawai K., Itakura K. 1984. Effect of fructooligosaccharides on blood glucose and serum lipids in diabetic subjects. *Nutr. Res.* 4: 961-966.

Younes H., Demigné C., Rémésy C. 1996. Acidic fermentation in the caecum increases absorption of calcium and magnesium in the large intestine of the rat. *B. J. Nutr.* 75:301-314.

Younes H., Rémésy C., Behr S., Demigné C. 1997. Fermentable carbohydrate exerts a urea lowering effect in normal and nephrectomised rats. *Am. J. Physiol.* 272(3 Pt.1): 515-521.