

-RESEÑA-

FRUCTOOLIGOSACÁRIDOS Y PROBIÓTICOS EN LECHE FERMENTADAS, UNA ALTERNATIVA NUTRICIONAL Y SALUDABLE

*Oxalis Rodríguez*¹, Arellys Cortada¹, José A. Rodríguez² y Beatriz Santos³*

¹Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia, Carretera al Guatao, km 3 1/2, La Habana, C.P. 19 200, Cuba.

²Dirección Nacional Logística del MININT, Cuba.

³Facultad de Química. Universidad de La Habana, Cuba.

E-mail: oxalis@iiaa.edu.cu

RESUMEN

El presente trabajo recopila información relacionada con fructooligosacáridos y probióticos en leches fermentadas. Entre los productos lácteos con propiedades funcionales que se comercializan internacionalmente están las leches fermentadas simbióticas. Numerosos estudios refieren que la incorporación de bacterias probióticas y productos prebióticos en las leches fermentadas es beneficiosa para la salud. Los fructooligosacáridos se hallan entre los prebióticos que más se utilizan en este tipo de productos. Las bacterias beneficiosas presentes en la biota intestinal del consumidor también se estimulan con el consumo de estos productos. Resulta útil poder disponer de leches fermentadas simbióticas, pues en un mismo producto constamos con los microorganismos probióticos, el sustrato específico para ellos y componentes con alto valor nutricional para humanos.

Palabras claves: probióticos, prebióticos, leches fermentadas, fructooligosacáridos.

ABSTRACT

Fructooligosaccharides and probiotic in fermented milk, a nutritional and health alternative

The present work gathers information related to fructooligosaccharides and probiotics in fermented milk. Among dairy products with functional properties, the symbiotic fermented milks are commercially available worldwide. Numerous studies refer that the incorporation of probiotic bacteria and prebiotic products in the fermented milk are beneficial for health. Fructooligosaccharides are among prebiotics the most used in this type of products. The beneficial bacteria present at the consumer's intestinal biota are also stimulated with the consumption of these products. It is useful dispose of symbiotic fermented milk, since as in oneself product exist probiotic microorganisms, the specific nutritius substances for them and components with high nutritional value for humans.

Keys words: probiotic, prebiotic, fermented milk, fructooligosaccharides.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años las empresas del sector lácteo han lanzado al mercado diferentes tipos de leches fermentadas elaboradas con cepas probióticas, en su mayoría colonizadoras del tracto gastrointestinal del hombre (1, 2). Los géneros de microorganismos más utilizados en productos con cualidades probióticas son *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*, dentro de estos se destacan algunas cepas como *Bifidobacterium bifidum* y *Lactobacillus*

**Oxalis Rodríguez Martínez: Licenciada en Microbiología (U.H., 2002). Investigador Agregado. Máster en Ciencias Microbiológicas (U.H., 2007). Labora actualmente en la calidad microbiológica de productos lácteos y sus derivados, y el desarrollo de productos con probióticos y prebióticos.*

acidophilus. Recientemente han sido incluidos los prebióticos en las leches fermentadas, que también reportan beneficios para la salud del hombre, entre ellos los fructooligosacáridos. Estos carbohidratos popularmente llamados FOS, presentan dos propiedades fisiológicas características como son: su no-digestibilidad y su utilización selectiva por la microbiota intestinal beneficiosa (3).

En el campo de los alimentos funcionales están ganando lugar las leches fermentadas simbióticas, las cuales son obtenidas a partir de la combinación de microorganismos probióticos y suplementos prebióticos. Entre los beneficios más conocidos de los productos simbióticos podemos encontrar: efecto potenciador sobre el sistema inmune, actividad detoxificante, anticancerígena, acción preventiva contra enfermedades cardiovasculares, amplio espectro de inhibición sobre invasores patógenos, entre otros (4).

Cuba también ha volcado sus esfuerzos hacia la investigación y desarrollo de leches fermentadas con combinaciones de microorganismos probióticos y productos prebióticos. Para conocer sobre los grandes beneficios aportados por los productos probióticos y los prebióticos en leches fermentadas, se consideró importante realizar este trabajo, cuyo objetivo fue recopilar información disponible relacionada con fructooligosacáridos y probióticos en leches fermentadas.

Leches fermentadas. Definición y tipos

Las leches fermentadas se originaron en el Oriente y se extendieron a través de Europa Central y Oriental, aceptándose, no solo por sus cualidades organolépticas, sino también por sus propiedades alimenticias y medicinales (5). La leche fermentada es un producto lácteo obtenido por medio de la fermentación de la leche, que puede haber sido elaborado con o sin modificaciones en la composición de la misma, por medio de la acción de cultivos adecuados y teniendo como resultado la reducción del pH, con o sin precipitación isoelectrónica (coagulación). Estos cultivos de microorganismos serán viables, activos y abundantes en el producto, hasta la fecha de duración mínima (6).

Existe gran cantidad de leches fermentadas tradicionales (yogur, *kefir*, *koumis*). Se conocen más de 400 nombres diferentes en todo el mundo, dependiendo del

país donde se elaboran, aunque muchas de estas leches son prácticamente las mismas (2). Se han definido como "nuevas leches fermentadas" a todas aquellas que contienen bacterias probióticas de origen intestinal, (*Lactobacillus casei*, *L. acidophilus*, *Bifidobacterium spp.*, principalmente) solas o en combinación con otros microorganismos productores de ácido láctico. Estas leches fermentadas con propiedades terapéuticas, poseen gran valor nutritivo (1).

Valor nutritivo de las leches fermentadas

El aporte energético de las leches fermentadas es similar al que presenta la leche natural. El contenido final de la lactosa tampoco difiere mucho del de la leche, pues los microorganismos presentes en las leches fermentadas, realizan un consumo pequeño de la lactosa. Sin embargo, si la leche es enriquecida con leche en polvo o concentrada, el contenido de lactosa final resulta incrementado (4,5 a 5,0 g/100 mL) (7).

La digestibilidad es mayor en las leches fermentadas (2) debido a la degradación de los azúcares por parte de los microorganismos fermentativos, haciendo a la lactosa más asimilable por los individuos intolerantes a esta. En consecuencia, se aumenta el contenido de ácido láctico, mejorando la digestibilidad de las caseínas y favoreciendo la absorción de calcio por el intestino. Además, hay una disminución del tamaño de la partícula proteica con un aumento de péptidos y aminoácidos libres, debido a la acción proteolítica de los microorganismos de la fermentación, y como la caseína ya se encuentra coagulada antes de la ingestión, se facilita el ataque de enzimas.

Como resultado de la fermentación las lipasas bacterianas, producen cambios en el perfil de ácidos grasos libres. Debido al tratamiento térmico elevado que sufre la leche, se destruye una parte de Vitaminas C, B₆, B₁₂ y ácido fólico, pero los microorganismos que intervienen en la fermentación producen B₁, B₂ y sintetizan otras: B₆ y B₁₂, ácido fólico, biotina, ácido pantoténico, y vitamina K. La mayor parte de esta síntesis se lleva a cabo en el intestino grueso (8). La composición mineral de la leche no resulta alterada por la fermentación, por lo que las leches fermentadas son una excelente fuente de calcio, fósforo, magnesio y zinc (9).

Alimentos funcionales

Mientras en el siglo XX el objetivo de la "nutrición adecuada" era garantizar exclusivamente el aporte de energía, macronutrientes y micronutrientes, en la actualidad se busca que el alimento proporcione componentes funcionales adicionales a su aporte en nutrientes. En el marco de la "nutrición óptima" surge entonces el concepto de alimento funcional (10).

Se entiende por alimento funcional aquel que contiene un componente, nutriente o no nutriente, con actividad selectiva relacionada con una o varias funciones del organismo, con un efecto fisiológico añadido por encima de su valor nutricional (11).

El efecto positivo de un alimento funcional puede ser tanto en el mantenimiento del estado de salud, como en la reducción del riesgo a padecer una enfermedad (12). En este sentido, los alimentos funcionales ejercen su acción en múltiples sistemas, especialmente en el tracto gastrointestinal, el sistema cardiovascular y el sistema inmunológico (11-13).

Entre los alimentos funcionales más populares y sobre los que existe la mayor evidencia científica, podemos encontrar los que contienen microorganismos probióticos solos o combinados con productos prebióticos (14).

Microorganismos probióticos

En 1965, Lilly y Stillwell, utilizaron por primera vez el término de probiótico para nombrar a las sustancias producidas por un microorganismo que estimulaba el crecimiento de otro. Dicha palabra deriva de dos vocablos, del latín -pro- que significa por o a favor de, y del griego -bios- que quiere decir vida (15).

En los años siguientes se dieron muchas definiciones de probióticos, una de las más certeras fue dada por Havenaar como "cultivo viable puro o mixto de microorganismos, que aplicado al animal o al hombre, afecta beneficiosamente al hospedero, mejorando las propiedades de la microbiota intestinal nativa" (16). La definición más actual es "Microorganismos vivos que, al ser administrados en cantidades adecuadas, ejercen una acción benéfica sobre la salud del huésped" (17).

Otros investigadores (18), han expresado diversos criterios sobre las características que deben tener los microorganismos para asegurar que pueden ejercer un efecto probiótico, entre ellas se mencionan: habilidad de sobrevivir al pasaje a través del tracto gastrointestinal, estables en condiciones gástricas, capaz de adherirse a las células de la mucosa intestinal y crecer en las condiciones intestinales, producción de sustancias antimicrobianas y antagonismo contra bacterias patógenas, estabilidad bajo diferentes condiciones tecnológicas.

Leches fermentadas con microorganismos probióticos

En los últimos años, las empresas del sector lácteo, han lanzado al mercado diferentes tipos de leches fermentadas, combinándose frecuentemente los microorganismos que intervienen en la elaboración del yogur con bacterias probióticas (19-21).

Muchos científicos, pediatras, nutricionistas y fisiólogos, consideran a este tipo de producto como la obra maestra que combina la fermentación y la actividad metabólica de una gran variedad de microorganismos en los que predominan las bacterias ácido lácticas. A estos productos se les han conferido grandes beneficios para la salud humana, avalados por investigaciones realizadas en este campo (22).

Beneficios de las leches fermentadas con probióticos

Las investigaciones en el campo de las ciencias de los alimentos, han demostrado que el consumo de leches fermentadas con bacterias probióticas proporciona innumerables beneficios al organismo de gran importancia terapéutica como son: restablecimiento del equilibrio de la biota intestinal (23, 24), mejoría en problemas de intolerancia a la lactosa (25), efectos inmunopotenciadores (26), disminución de alergia a los alimentos (27, 28), estimulación de la actividad antitumoral (29), disminución de las tasas de colesterol y síntesis de nutrientes (30) y prevención de la osteoporosis (31, 32).

Prebióticos

Los prebióticos fueron definidos por primera vez en 1995 como ingredientes alimentarios no digeribles que afectan de manera beneficiosa al hospedero, estimulando selectivamente el crecimiento y/o la actividad de una o más bacterias del colon, contribuyendo así al incremento de la salud del hospedero (33, 34). En la actualidad se está manejando el concepto de prebióticos, referido por algunos autores como el sustrato trófico o alimento ideal de los probióticos (15, 35).

Los prebióticos son fundamentalmente hidratos de carbono y en menor medida proteínas, que no pueden ser absorbidos ni degradados a su paso por el estómago del hombre y los animales monogástricos, porque estos no presentan las enzimas necesarias para su procesamiento (22, 36). De esta forma llegan intactos al colon, donde son fermentados por los microorganismos probióticos residentes allí (12).

Para que un compuesto pueda ser definido como un prebiótico no debe ser hidrolizado ni absorbido en la parte superior del tracto digestivo; tiene que ser un sustrato selectivo de una o de un número limitado de bacterias colónicas beneficiosas, estimular su número y actividad metabólica; debe contribuir al equilibrio de la biota colónica en favor de una composición beneficiosa al hospedero; debe producir efectos beneficiosos en el organismo que lo ingiere, influyendo en la producción de energía, sustratos metabólicos y micronutrientes útiles (37, 38).

Existen diversos compuestos que pueden clasificarse como prebióticos, entre los que podemos encontrar: fructooligosacáridos, inulinas, glucooligosacáridos, galactooligosacáridos, isomaltooligosacáridos, xilooligosacáridos, lactilol, lactulosa, entre otros (37, 39). Sin embargo, los FOS y las inulinas son los principales representantes de este grupo de compuestos, que están adquiriendo cada vez mayor auge en el mercado de los alimentos funcionales, por su acción y efectos comprobados como prebióticos (40-42).

Fructooligosacáridos

Los FOS, también conocidos como oligofructosacáridos u oligofructosas, junto a las inulinas, pertenecen a un grupo de compuestos denominados fructanos. Los fructanos naturales están formados generalmente por

una sacarosa inicial, seguida por un número variable de residuos de fructosa. Estos compuestos pueden ser de cadenas lineales o ramificadas (43).

Desde el punto de vista comercial, los FOS son los que presentan mayor importancia, pues son los componentes alimentarios que parecen ejercer el mejor efecto prebiótico (41), por ser el sustrato más conveniente para el rápido crecimiento de algunas bacterias colónicas (44). De hecho, fueron los primeros oligosacáridos no digeribles en los que se verificaron propiedades funcionales (45, 46). Son generalmente producidos por plantas y hongos, presentan un grado de polimerización de 2 a 10 unidades componentes, y los enlaces entre los residuos de fructosa que los componen pueden ser β (2-1) o β (2-6). Los más comunes en la naturaleza son el trisacárido 1-kestosa (GF_2), el tetrasacárido nistosa (GF_3) y el pentasacárido fructosilnistosa (GF_4), en los cuales las unidades de fructosa están unidas por enlaces β (2-1) (34).

Propiedades físicas, fisiológicas y efecto prebiótico de los FOS

Los FOS son compuestos incoloros e inodoros. La viscosidad de las disoluciones de FOS, así como la estabilidad térmica de estos compuestos, es relativamente superior a la de la sacarosa a la misma concentración, aunque varía en dependencia del tipo de enlace presente entre los residuos de fructosa (47). Los fructanos de cadenas cortas tienen sabor dulce, manteniendo hasta un tercio del dulzor de la sacarosa. Los FOS son altamente higroscópicos, por lo que resulta difícil mantener estables estos productos liofilizados bajo condiciones atmosféricas por largo tiempo (46).

Estas características de los FOS pueden ser aprovechadas en el campo de los alimentos pues su incorporación en una formulación no debe introducir nuevos colores ni olores que puedan desvirtuar las características organolépticas propias del producto alimenticio y su estabilidad térmica permite que sean incorporados antes de los procesos de pasteurización que son comúnmente empleados para garantizar la inocuidad de los alimentos.

Entre las propiedades fisiológicas características de los FOS se encuentran: su no-digestibilidad y su utilización selectiva por la microbiota intestinal (48).

La utilización selectiva de los fructanos por las bifidobacterias y lactobacilos deriva en la producción de ácido láctico y ácidos grasos de cadenas cortas, fundamentalmente acetato, propionato y butirato, lo cual provoca un descenso del pH del tracto digestivo y disminuye la población de bacterias patógenas que se encuentran en el intestino, que no pueden utilizar los fructanos y son sensibles a la acidificación (Ejemplo: *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella spp.*, entre otras) (49). La absorción de los ácidos grasos de cadenas cortas producidos, por su parte, mejora la composición lipídica de la sangre, lo que conduce a la reducción de la tasa de colesterol y al control de la hipertensión arterial (22, 38).

La ingestión de FOS puede contribuir también a un marcado incremento en la absorción de minerales, especialmente calcio, y por tanto, a un aumento de la mineralización de los huesos. Este efecto es importante en la prevención de enfermedades como la osteoporosis (32, 38). Se especula que la microbiota presente en el colon, al provocar una disminución en el pH del lumen, promueve la reducción química de los minerales, facilitando así su absorción. Esto estimula a su vez la proliferación de células epiteliales con una mayor expresión de proteínas asociadas al transporte de minerales, con el consiguiente aumento, no sólo de las superficies de absorción, sino también de la eficiencia de las mismas (50).

Los FOS tienen la capacidad de disminuir la uremia y la anemia, pues el nitrógeno amoniacal generado en el colon 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 (34). También presentan funcionalidad como fibra dietética, este hecho es de gran interés en el control y alivio de enfermedades como el estreñimiento, al permitir una mejor formación del bolo fecal y favorecer la movilidad intestinal (51). Por sus propiedades como edulcorantes de bajo aporte calórico, los FOS ayudan a la prevención de aterosclerosis, enfermedades cardiovasculares e hipertrigliceridemia, las cuales están asociadas a dietas hipercalóricas. Paralelamente a esto, al disminuir la ingesta de calorías, disminuye el riesgo de obesidad y de padecer diabetes tipo II. La ingesta de estos carbohidratos puede aliviar también la intolerancia a la lactosa (34, 36).

El consumo per cápita de FOS en los Estados Unidos está estimado entre 1-4 g/día y en Europa entre 3-11 g/día (38). Otros autores plantean el consumo de 0,7 g/día, en el caso de los niños, y alrededor de 1,5 g/día para adultos (36).

Aplicaciones de los FOS

Los FOS se utilizan en la elaboración de diferentes productos de alta demanda como helados, sorbetos, refrescos, jugos, productos de dulcería, cereales, productos lácteos, etc. (38). La principal aplicación que en la actualidad está teniendo el empleo de FOS es en la suplementación de fórmulas para niños que no pueden ser alimentados con la leche materna (51). En el momento del nacimiento la microbiota intestinal del recién nacido está ausente, pero durante los primeros días de vida el niño adquiere bifidobacterias, lactobacilos y enterobacterias. En los niños alimentados con leche materna se observa un incremento considerable en el número de bifidobacterias, que puede alcanzar niveles de hasta 80 y 90 % de la biota colónica, aunque en la etapa adulta se reduce hasta 5 y 10 % (41).

Los niveles de bifidobacterias y lactobacilos en la infancia temprana se deben en gran medida a los oligosacáridos presentes en la leche materna (41, 50). En el caso de los niños que no pueden ser amamantados, las fórmulas infantiles constituyen una alternativa útil como fuente de alimentación. El diseño de estas fórmulas sigue como modelo la composición de la leche materna, pero la tendencia actual es buscar los efectos funcionales que esta proporciona, donde desempeña un papel importante el suplemento con FOS (39). En estudios realizados se ha demostrado que en los niños alimentados con fórmulas infantiles con incorporación de FOS, las bifidobacterias colonizan rápidamente convirtiéndose en la biota dominante, casi hasta los niveles encontrados en niños alimentados con leche materna, al tiempo que contribuyen a la exclusión de patógenos (39, 52).

Las bacterias probióticas deben consumirse a concentraciones celulares mayores de 10^7 ufc/mL para poder ejercer su efecto probiótico (17). Sin embargo, el crecimiento de estas bacterias durante el período de conservación de un producto, puede afectarse por diferentes causas. Es por ello que se ha estudiado el efecto de la incorporación de los FOS en las leches cuando

son fermentadas con microorganismos probióticos. Esta combinación permite mantener la viabilidad celular de bifidobacterias y lactobacilos durante el período de conservación del producto (53, 54).

En Cuba se desarrolló por primera vez la producción de un sirope FOS-G mediante la fermentación de una melaza de caña por la levadura *Pichia pastoris*. Este producto se comercializa actualmente con el nombre de "ALIDUX", constituyendo el primer prebiótico de producción nacional (35).

Con los beneficios referidos de los FOS para la salud humana, su introducción como un acompañante de los microorganismos probióticos en las leches fermentadas resulta una buena alternativa. En este caso en un mismo producto están disponibles los microorganismos probióticos y el sustrato específico para las bacterias beneficiosas que se encuentran formando parte de la biota intestinal del consumidor.

Por todo lo antes expuesto sería útil obtener productos simbióticos cubanos, aprovechando la disponibilidad de cultivos probióticos y de un sirope prebiótico ALIDUX de producción nacional.

REFERENCIAS

1. Mazza, G. Alimentos Funcionales. Aspectos nutricionales y de procesado. Ed. Acribia, Zaragoza, 2000.
2. Rota, C. y Herrera, A. *Alimentaria* (356): 47-51, 2001.
3. Gustaw, W.; Kordowska-Wiater, M. y Koziol, J. *Sci. Pol. Technol. Aliment.* 10 (4): 455-466, 2011.
4. Romeo, J.; Nova, E.; Warnberg, J.; Gómez-Martínez, S.; Díaz, L. E. y Marcos, A. *Nutr. Hosp.* 25(3): 341-349, 2010.
5. Sl- Onge, M. y Fanwerth, F. *Am. J. Clin. Nutr.* 71(3): 674-681, 2000.
6. FAO/OMS. Informe del 25 Período de Servicios de la Comisión del Codex Alimentarius sobre la leche y productos lácteos, 2003.
7. Hughes, D. A. *Proc. Nutr. Soc.* 58: 79-84, 1999.
8. Blumberg, J. B. y Hughes, D. A. *Bibl. Nutr. Dieta* 55: 200-205, 2001.
9. Brock, J. H. *Proc. Nutr. Soc.*, 59: 537-540, 2000.
10. Hernández, H. *Tecnología* 3: 10-21, 2006.
11. Botana, A. *Boletín Informativo del Medicamento* 54: 5-10, 2005.
12. Silveira, M. B.; Monereo, S. y Molina, B. *Rev. Esp. Salud Pú.* 77(3): 317-331, 2003.
13. Bezirtzoglou, E. y Stavropoulou, E. *Anaerobe* 17(6): 369-374, 2011.
14. Saulnier, D.; Spinler, J.; Gibson, G. y Versalovic, J. *Current Opinion in Biotechnology*, 20: 1-7, 2009.
15. Gupta, V. y Garg, R. *Indian J. Med. Microbiol* 27(3): 202- 209, 2009.
16. Havenaar, R. y Huis In't Veld, M. J. H. *Probiotics: a general view*. In: *Lactic acid bacteria in health and disease*. Elsevier Applied Science Publishers. Vol 1, 1992.
17. FAO. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food, Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food, 2002.
18. Rogelj, I. *Mljekarstvo* 44(4): 277-284, 1994.
19. García, H.; Paz, T.; Tejedor, R.; Rodríguez, O. y Núñez-Villavicencio, M. *Alimentaria* (359): 49-53, 2004.
20. Perea, J. y Brito, A. I. *Cien. Tecn. Alim.* 18 (1): 20-24, 2008.
21. Brito, A. I. y Perea, J. *Cien. Tecn. Alim.* 18 (2): 50-53, 2008.
22. Martí, A.; Moreno, M. J. y Martínez, J. A. *Nut. Hosp.* 18(4): 181-188, 2003.
23. Corthesy, B.; Gaskins, H. R. y Mercenier, A. *The Journal of Nutrition* 137: 781-790, 2007.
24. Douglas, L. y Sanders, M. *Amer. Diet. Assoc.* 108(3): 510-521, 2008.
25. Sanz, Y. y Am, J. *Clin. Nutr.* 94(6): 2000S-2005S, 2011.
26. De Moreno, A.; Chavesa, E.; Carmuegac, E.; Weill, R.; Antoine, J. y Perdígón, G. E. *Inmunobiology* 213(2): 97-108, 2008.
27. Fujimori, S.; Tatsuguchi, A.; Gudis, K.; Kishida, T.; Mitsui, K. y Ehara, A. *H. J. Gast. Hep.* 22: 1199-1204, 2007.
28. Fujimori, S.; Gudis, K.; Mitsui, K.; Seo, T.; Yonezawa, M.; Tanaka, S.; Tatsuguchi, A. y Sakamoto, C. *Nutrition* 25(5): 520-525, 2009.
29. Davis, C. D. y Milner, J. A. *J. Nutr. Biochem.* 20(10): 743- 752, 2009.
30. Leveau, J. Y. y Bouix, M. *Los microorganismos de interés industrial*. Ed. Acribia, Zaragoza, 2000, pp. 167-323.
31. Tarruela, J. y García, E. *Yogur vivo, alimento fresco y activo*, 1: 2-7, 2003.

32. Scholz, K. E.; Ade, P.; Marten, B.; Weber, P.; Timm, W.; Asil, Y.; Gluer, C. y Schrezenmeir, J. *Journal Nutrition* 137: 838-846, 2007.
33. Gibson, G. R. y Roberfroid, M. B. *Jour. Nutr.*, 125: 1401-1412, 1995.
34. Pérez-Coneza, D.; López, G. y Ros, G. *Nutrición y Bromatología* 20: 5-20, 2004.
35. Pérez, E. Obtención de un biocatalizador para la producción industrial de FOS a partir de la sacarosa, utilizando una fructosiltransferasa vegetal expresada en *Pichia pastoris* (tesis de Maestría, Universidad Central de las Villas, Santa Clara) 2010.
36. Vernazza, C. L.; Rabiú, B. A. y Gibson, G. R. *Human colonic microbiology and the role of dietary intervention: Introduction to prebiotics*. En: *Prebiotics: Development and Application*. In G. R. Gibson and R. A. Rastall, eds. John Wiley & Sons, Ltd., 2006.
37. Gibson, G. R. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 18(2): 287-298, 2004.
38. Leal, L. O. y Villares, J. M. *Anal. Ped.* 4(1): 20-29, 2006.
39. Wang, Y. *Prebiotics*. *Food Research International*, 42: 8-12, 2009.
40. Kolida, S.; Tuohy, K. y Gibson, G. R. *British Jour. Nutr.* 87(2): 193-197, 2002.
41. Tojo, R. y Leis, R. *Bol. Ped.* 43: 376-395, 2003.
42. Sangeetha, P.; Ramesh, M. y Prapulla, S. *Trends in Food Sc. Tech.* 16(10): 442-457, 2005.
43. Althenbach, D. En: *Structure-function analysis of plant fructosyltransferases* (tesis Doctoral, Universidad de Basel) 2005.
44. Banguela, A. y Hernández, L. *Biotech. Aplic.* 23: 202-210, 2006.
45. Hirayama, M. *Pure Appl. Chem.* 74(7): 1271-1279, 2002.
46. Mussatto, S. y Manchilha, I. *Carbohydrate* 68: 587-597, 2007.
47. Chacón, A. *Agronomía Mesoamericana*, 17(2): 265-286, 2006.
48. Saavedra, J. M. *Prebiotics*. *Clin. Nutr. Highlights* 1(2): 1-26, 2005.
49. Cajigas, A. L. y Blanco, J. *Rev. Cub. Alim. Nutr.* 16(1): 63-68, 2002.
50. Cashman, K. *Current Issues of Intestinal Microbiology* 4: 21-32, 2003.
51. Moro, G.; Arslanoglu, S.; Stahl, B.; Jelinek, J.; Wahn, U. y Boehm, G. *Archives of Disease in Childhood* 91: 814-819, 2006.
52. Kapiki, A.; Costalos, C.; Oikonomidou, C.; Triantafyllidou, A.; Loukatou, E. y Petrohilou, V. *Early Human Development* 83: 335-339, 2007.
53. Choi, N. Y. y Shin, H. *Food Sci. Biotechnol.* 15(4): 543-548, 2006.
54. Gustaw, W.; Kordowska-Wiater, M. y Koziot, J. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* 10 (4): 455-466, 2011.