



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Agronomia Animali Alimenti Risorse Naturali E  
Ambientali (DAFNAE)

Corso di laurea in Scienze e Tecnologie Alimentari

# Ruolo dei prebiotici nello sviluppo di alimenti funzionali

Relatore

Prof.ssa Gabriella Pasini

Laureando

Jacopo Bortolan

Matricola n. 1223013

ANNO ACCADEMICO 2021/2022



## INDICE

Riassunto	1
Abstract	2
Introduzione	3
1. Caratteristiche prebiotici	5
1.1. Definizione	5
1.2. Tipi e fonti	6
1.2.1. Frutto-oligosaccaridi	6
1.2.2. Galattooligosaccaridi	7
1.2.3. Xilo-oligosaccaridi	7
1.2.4. Inulina	8
1.2.5. Lattulosio	8
1.2.6. Lattosaccarosio	9
1.2.7. Isomalto-oligosaccaridi	9
1.3. Nuovi prebiotici	10
1.3.1. Oligosaccaridi di soia	11
1.3.2. Polisaccaridi di alghe	11
1.4. Modalità di azione	12
1.5. Fermentabilità e selettività dei prebiotici	14
1.6. Digeribilità dei prebiotici	15
2. Alimenti funzionali	17
2.1. Applicazione di prebiotici nei prodotti alimentari funzionali	18
2.2. Prebiotici come sostituti dei grassi	19
2.2.1. Effetti dei prebiotici sulle caratteristiche chimiche dello yogurt	19
2.2.2. Effetti dei prebiotici sulle misurazioni reologiche dello yogurt	19
2.2.3. Effetti dei prebiotici sulla valutazione sensoriale dello yogurt	20
2.3. Effetto dei prebiotici sulla crescita dei probiotici	20
2.3.1. Latte materno e fattore bifidus	20
2.3.2. Effetto dei prebiotici sulle conte vitali dei probiotici	21
3. Impatto dei prebiotici sulle infezioni da agenti patogeni batterici	22
3.1. Prebiotici e disturbi gastrointestinali	22

3.1.1.	Gastroenterite acuta	22
3.1.2.	Obesità	23
3.1.3.	Diabete	23
3.1.4.	Riduzione del rischio di cancro al colon	24
3.1.5.	Assorbimento minerale	25
3.1.6.	Regolazione dei lipidi	25
3.1.7.	Riduzione della stitichezza	27
3.2.	Prebiotici e il sistema nervoso	30
3.2.1.	Autismo	30
3.2.2.	Encefalopatia epatica	31
4.	Aspetti di sicurezza dei prebiotici	33
5.	Conclusioni	34
	Bibliografia	35





## **RIASSUNTO**

Negli ultimi decenni i prebiotici, ovvero carboidrati a catena corta non digeribili o digeribili parzialmente, introdotti solitamente con una dieta regolare, sono stati studiati in maniera approfondita, attraverso diversi studi svolti sia sull'uomo che sugli animali, a causa dei numerosi benefici che apportano alla salute.

Possiamo trovarli in diversi ortaggi e frutta e possono apportare dei vantaggi dal punto di vista tecnologico in un'ampia gamma di prodotti alimentari. Con la loro aggiunta possiamo quindi migliorare diverse caratteristiche sensoriali quali gusto, consistenza, emulsioni e stabilità di schiume.

Inoltre, questi prebiotici alimentari vengono metabolizzati da diversi batteri presenti nell'intestino per produrre metaboliti benefici, in particolare acidi grassi a catena corta (SCFA) che vanno ad impattare in maniera positiva sulla fisiologia generale dell'ospite; essendo rilasciati nella circolazione sanguigna andranno ad interessare oltre al tratto gastrointestinale anche altri organi più distanti.

I benefici per la salute collegati ai prebiotici sono: assorbimento di minerali, migliore risposta immunitaria, miglioramento del metabolismo lipidico, possibile protezione contro il cancro, riduzione rischio malattie infiammatorie intestinali, diarrea, azione contro diabete e obesità.

Con questo elaborato finale l'obiettivo è quello di fornire informazioni utili sull'uso di prebiotici bioattivi nell'applicazione alimentare, di valutare alimenti funzionali con una prospettiva critica, con un riferimento al loro ruolo nel potenziamento immunitario, al meccanismo di azione e il coinvolgimento di prebiotici nella prevenzione di varie malattie.

## **ABSTRACT**

In the last few decades prebiotics, non-digestible short-chain carbohydrates in the last decades have been introduced that have been studied in a way through both different human studies that contribute to health.

We can find them in different vegetables and fruits and they can bring technological advantages in a wide range of food products. With their addition we can therefore improve various sensory characteristics such as taste, consistency, emulsions and stability of foams.

Furthermore, these food prebiotics are metabolized by various bacteria present in the intestine to produce beneficial metabolites, in particular short-chain fatty acids (SCFA) which have a positive impact on the general physiology of the host; being released into the bloodstream and will affect other more distant organs in addition to the gastrointestinal tract.

The benefits for the links to prebiotics are: mineral absorption, improved immune response, improved lipid metabolism, possible protection against cancer, reduced risk of inflammatory bowel diseases, diarrhea, action against diabetes and obesity.

With this final paper the goal is to provide useful information on the use of bioactive prebiotics in the application, of functional food evaluation with a critical perspective, with a reference to their role in immune enhancement, to the mechanism of action and the involvement of prebiotics in the prevention of various diseases.



## **INTRODUZIONE**

Da molto tempo il cibo, oltre al ruolo fondamentale di fornire nutrienti all'uomo necessari alla crescita e allo sviluppo, sta acquisendo importanza anche per alcuni aspetti rilevanti come il miglioramento della salute e la prevenzione delle malattie. Con il crescente interesse dei consumatori per la cura di sé e il miglioramento della qualità della vita, la ricerca per comprendere l'impatto dell'interazione tra dieta, intestino e salute è aumentata rapidamente (Niva, 2007) (Rastall, 2010). L'intestino umano è noto per essere uno degli organi metabolici più attivi contenente una complessa comunità di microrganismi, o microbiota, che influisce sulla salute dell'ospite (Holscher, 2017). Inoltre, è un fatto consolidato che il microbiota intestinale mantenga una relazione sinergica con l'ospite e svolga un ruolo critico in varie funzioni biologiche, tra cui l'utilizzo dei nutrienti, l'assistenza nella digestione dell'ospite, il rafforzamento del sistema immunitario e la protezione contro i patogeni infettivi (Bindels, Delzenne, Cani, & Walter, 2015). Tuttavia, alcuni cambiamenti/squilibri indesiderati nei modelli del microbiota intestinale noti come disbiosi, sono responsabili di specifici disturbi gastrointestinali e immuno-mediati come la celiachia, il morbo di Crohn, l'obesità, le malattie del fegato, la sclerosi multipla, l'artrite e il cancro (Anadón, Martínez-Larrañaga, Arés, & Martínez, 2016). Ciò ha portato all'idea che la manipolazione deliberata della composizione o dell'attività metabolica del microbiota intestinale possa essere utilizzata come bersaglio terapeutico per migliorare la salute dell'ospite. Di conseguenza, l'utilizzo di alimenti funzionali e integratori alimentari come prebiotici, probiotici e sinbiotici per regolare il microbiota intestinale ha guadagnato interesse, il che ha portato a un rapido aumento nel mercato globale (de Preter & Verbeke, 2014). La dimensione del mercato globale degli alimenti funzionali è attualmente stimata in 161,50 miliardi di dollari e si prevede che salirà a circa 275,80 miliardi di dollari entro il 2025. I principali leader del mercato degli alimenti funzionali includono Stati Uniti, Giappone ed Europa, mentre India, Cina e America Latina, insieme ad altri paesi asiatici, stanno registrando un alto tasso di crescita del mercato (<https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/functional-food-market/>).

Tra questi prodotti funzionali, i prebiotici hanno inciso la loro nicchia significativa nella comunità scientifica grazie alla loro vasta gamma di effetti terapeutici, tra cui effetti immunomodulatori, antiossidanti, antitumorali e anti-iperlipidici (Patel & Goyal, 2012). Frutto-oligosaccaridi (FOS) e galattooligosaccaridi (GOS) sono stati riconosciuti per dominare la categoria dei prebiotici stimolando la crescita e l'attività di batteri benefici, in particolare Bifidobacterium e Lactobacillus,

inducendo di conseguenza effetti favorevoli sulla composizione del microbiota intestinale (Gibson, et al., 2017). Tuttavia, con i progressi negli approcci per l'analisi del microbiota intestinale (microarray e sequenziamento), sono state migliorate le conoscenze sulla sua composizione e sui metaboliti aggiuntivi che influenzano l'ecosistema microbico. Inoltre, ci si è resi conto che l'effetto dei prebiotici non è confinato a specifici microrganismi; piuttosto una vasta gamma di microrganismi ne è influenzata (Collins & Reid, 2016). Pertanto, una definizione oggi accettata di prebiotico è stata proposta da Bindels et al. (2015) come “ingrediente non digerito che, mediante la sua fermentazione nel colon umano, modula l'attività e/o la composizione del microbiota intestinale, migliorando così la salute fisiologica dell'ospite”. È interessante notare che la fermentazione dei prodotti prebiotici nel colon da parte del microbiota intestinale produce alcuni metaboliti, tra cui butirrato, propionato e acetato come principali prodotti finali.

Si dice che questa successiva produzione di acidi grassi a catena corta (SCFA) conferisca numerosi benefici fisiologici alla salute dell'ospite come il miglioramento della funzione intestinale, la regolazione del sistema immunitario e del metabolismo del glucosio e l'assorbimento di minerali, nonché la riduzione del rischio di cancro, obesità e sindrome dell'intestino irritabile (Kaur & Panesar, 2020).

Tuttavia, rimane difficile motivare i criteri per cui i prebiotici stimolano l'attività e la crescita di particolari ceppi batterici nell'intestino. Inoltre, la fermentazione o proliferazione in vitro/in vivo di una coltura di particolari ceppi batterici non è considerata un effetto prebiotico a causa della mancanza di interazione batterica con l'intestino (Roberfroid, et al., 2010). Pertanto, il consenso tra i ricercatori è quello di legittimare l'uso continuato del termine "prebiotici" e di trarne un'attività assolutamente efficace (Corrêa-Oliveira, Fachi, Vieira, Sato, & Vinolo, 2016) (Park, et al., 2015). Negli ultimi 20 anni, il concetto e la definizione di prebiotici sono stati perfezionati più volte e sono ancora oggetto di ricerca e di discussioni scientifiche in tutto il mondo. Questa vaghezza nell'importanza e nelle potenziali applicazioni alimentari terapeutiche dei prebiotici ha innescato un'ampia quantità di ricerca nelle aree della biologia molecolare e della microbiologia gastrointestinale al fine di approfondire il concetto.

Tenendo presente tutto ciò, questo elaborato mira a fornire informazioni complete sui prebiotici, le loro fonti e i vari tipi, insieme ai loro benefici per la salute e agli aspetti di sicurezza.

## **1. CARATTERISTICHE PREBIOTICI**

### **1.1. Definizione**

Il concetto di prebiotici è stato introdotto per la prima volta nel 1995 da Glenn Gibson e Marcel Roberfroid (Glenn & Roberfroid, 1995). Il prebiotico è stato descritto come "un ingrediente alimentare non digeribile che agisce beneficamente sull'ospite stimolando selettivamente la crescita e/o l'attività di uno o un numero limitato di batteri nel colon, e quindi migliora la salute dell'ospite". Questa definizione è rimasta pressoché invariata per più di 15 anni. Secondo questa definizione, solo pochi composti del gruppo dei carboidrati, come i fruttani a catena corta e lunga (frutto-oligosaccaridi e inulina), il lattulosio e i galattooligosaccaridi, possono essere classificati come prebiotici. Nel 2008, il sesto Meeting dell'International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) ha definito i "prebiotici dietetici" come "un ingrediente fermentato selettivamente che determina cambiamenti specifici nella composizione e/o nell'attività del microbiota gastrointestinale, conferendo così benefici sulla salute dell'ospite" (Gibson, et al., 2010). Per classificare un composto come prebiotico sono usati i seguenti criteri:

- resistente al pH acido dello stomaco, non può essere idrolizzato dagli enzimi dei mammiferi e inoltre non deve essere assorbito nel tratto gastrointestinale,
- deve essere fermentato dal microbiota intestinale,
- la crescita e/o l'attività dei batteri intestinali deve essere stimolata selettivamente da questo composto e questo processo migliora la salute dell'ospite (Gibson, et al., 2010).

Sebbene non tutti i prebiotici siano carboidrati, i seguenti due criteri possono essere sfruttati per distinguere le fibre dai prebiotici derivati dai carboidrati:

1. le fibre sono carboidrati con un grado di polimerizzazione (DP) uguale o superiore a 3,
2. gli enzimi endogeni nell'intestino tenue non possono idrolizzarli. Va tenuto presente che la solubilità o fermentabilità della fibra non è determinante (Howlett, et al., 2010) (Slavin, 2013).

La suddetta definizione, data nel 2008, è stata accettata negli ultimi anni.

Nonostante l'assenza di una definizione consensuale, la parte importante della definizione originale e di altre è che il consumo di prebiotici è associato al benessere umano. La parola "selettività", ovvero la capacità di un prebiotico di stimolare uno specifico microbiota intestinale, era un altro elemento chiave della definizione originale; tuttavia, questo concetto è stato recentemente messo

in discussione (Bindels, Delzenne, Cani, & Walter, 2015). Scott et al. (2013) hanno riferito che l'effetto prebiotico è stato potenziato dall'alimentazione incrociata, definita come il prodotto di una specie che può essere consumato da un'altra specie. Questa implicazione solleva dubbi per l'utilizzo del termine "selettività" nella definizione di prebiotici, tenendo ancora aperto il dibattito sulla loro definizione.

## **1.2. Tipi e fonti**

I prebiotici vengono classificati in base alla loro fonte, tipo, substrato utilizzato per la produzione e struttura (numero di monomeri) (Biswal, Pal, & Das, 2017). Solitamente sono presenti in fonti naturali comprese fonti vegetali come semi, porri, cicoria, topinambur, legumi, fagioli, senape, ceci, soia, cipolla, banane, frutti di bosco, aglio, ecc. e matrici algali come alghe (Ashwini, et al., 2019) (Wang, Guo, Goff, & LaPointe, 2019). Vari prebiotici, insieme alle loro fonti, sono spiegati nelle sezioni seguenti.

### **1.2.1. Frutto-oligosaccaridi**

I frutto-oligosaccaridi (FOS) sono una miscela di oligosaccaridi costituita da molecole di glucosio legate ad unità di fruttosio da legami glicosidici  $\beta$ -(1,2) aventi un grado di polimerizzazione compreso tra 2 e 60 (Thamer & Penna, 2005). I FOS sono naturalmente presenti in alimenti di origine vegetale come grano, cicoria, topinambur, cipolla, asparagi, aglio e segale (Alander, et al., 2001). Studi di ricerca hanno riportato che i FOS presenti nell'intestino non vengono digeriti ma vengono fermentati per produrre SCFA (propionato, butirato e acetato), lattato e gas che stimolano la crescita di *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* e inibiscono la crescita di microrganismi patogeni (Bornet, Brouns, Tashiro, & Duvillier, 2002) (Hutkins, et al., 2016). Inoltre, i FOS aiutano ad abbassare il livello di colesterolo e migliorare il bioassorbimento di minerali come calcio e magnesio (de la Rosa, et al., 2019). I FOS hanno un gusto ragionevolmente dolce e hanno attributi funzionali e tecnologici quasi identici al glucosio e al saccarosio. Inoltre, i FOS sono noti per avere una buona solubilità a temperatura ambiente, il che significa che non precipitano né cristallizzano e inoltre non lasciano una sensazione di sabbia o secchezza in bocca. Pertanto, possono essere utilizzati con successo come dolcificante nei prodotti alimentari, per lo sviluppo di "prodotti ipocalorici", consentendo l'espansione delle loro applicazioni nei settori alimentare e farmaceutico (de Souza, Menezes, Cunha, Pereira, & Pinto, 2015) (Flores-Maltos, et al., 2016). Commercialmente, i FOS sono disponibili sul mercato con nomi come NutraFlora, Actilight, Meioligo e Neosugar (Bali, Panesar, Bera, & Panesar, 2015).

### **1.2.2. Galattooligosaccaridi**

I galattooligosaccaridi (GOS) sono un gruppo di carboidrati costituito da due a otto unità saccaridiche, con glucosio all'estremità riducente insieme ad unità di galattosio collegate tra loro da legami  $\beta$ -glicosidici (de Souza, Menezes, Cunha, Pereira, & Pinto, 2015). Di solito si trovano naturalmente in basse concentrazioni nei prodotti lattiero-caseari come il latte di capra (0,25–0,30 g/l), il latte ovino (0,02–0,04 g/l) e il latte bovino (0,03–0,06 g/l), oltre che nel latte umano (5–8 g/l) (Martinez-Ferez, et al., 2006).

Inoltre, è evidente che la struttura degli oligosaccaridi presenti in natura nel latte materno umano assomiglia al GOS, che è responsabile della protezione dei bambini dai microrganismi patogeni gastrointestinali ed è quindi riconosciuto come sicuro (Fischer & Kleinschmidt, 2018). Pertanto, i GOS sono spesso utilizzati come integratore negli alimenti per l'infanzia allo scopo di imitare gli effetti benefici degli oligosaccaridi del latte umano oltre a supportare la crescita dei batteri benefici *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (Bhatia, et al., 2015) (Sabater, Prodanov, Olano, Corzo, & Montilla, 2016). Un'altra caratteristica dei GOS è la loro elevata tolleranza alle alte temperature e al basso pH che ne facilita l'incorporazione come integratore in diversi prodotti alimentari (Vera, et al., 2016).

### **1.2.3. Xilo-oligosaccaridi**

Gli xilo-oligosaccaridi (XOS) sono oligomeri di zucchero costituiti da unità di xilosio legate tra loro da legami glicosidici  $\beta$ -(1,4) con tipi e proporzioni variabili di gruppi laterali come il derivato 4-O-metile e l'acido  $\alpha$ -D-glucopiranosiluronico. Solitamente sono coinvolti nella formazione di XOS da due a dieci residui di xilosio e possono essere classificati come xilobiosio, xilotriosio, xilottrosio, ecc., a seconda del numero di unità (Coelho, Rocha, Moreira, Domingues, & Coimbra, 2016). Si trovano naturalmente in frutta, verdura, latte, germogli di bambù, pannocchia di mais e miele (Mohanty, Misra, Mohapatra, & Sahu, 2018).

È stato segnalato che XOS mostra interessanti attributi fisico-chimici, tra cui struttura cristallina, stabilità in un'ampia gamma di temperature (fino a 100 °C) e pH (2,5–8), non cancerogenicità, elevata attività dell'acqua e attività antigelo (de Souza, Menezes, Cunha, Pereira, & Pinto, 2015). Inoltre, gli XOS hanno un odore gradevole, non hanno un sapore sgradevole e la loro dolcezza è equivalente a circa il 30% di quella del saccarosio (Samanta, et al., 2015). Pertanto, XOS può essere opportunamente incorporato in una varietà di prodotti alimentari come sostituto dei grassi, emulsionante o stabilizzante, nonché nello sviluppo di alimenti funzionali a basso contenuto calorico

(Amorim, Silvério, Prather, & Rodrigues, 2019). Inoltre, rapporti precedenti hanno suggerito il ruolo di XOS nella stimolazione del *Bifidobacterium* spp., esibendo così effetti benefici sulla salute umana. Gli XOS sono anche responsabili della soppressione dei batteri patogeni dovuti alla generazione di SCFA, in particolare del lattato (Carvalho, de Oliva Neto, Da Silva, & Pastore, 2013). Studi di ricerca hanno inoltre riportato numerose proprietà biologiche come antidiabetiche, antinfiammatorie, antiallergiche, antitumorali e di riduzione dello stress ossidativo, che hanno attirato l'attenzione del settore medico e farmaceutico (Amorim, et al., 2020) (Le, Ngoc, & Yang, 2020) (Lin, Chou, Chien, Chang, & Lin, 2016) (Lon, et al., 2019).

#### **1.2.4. Inulina**

L'inulina è un polisaccaride di stoccaggio non digeribile, presente in natura, appartenente alla classe dei fruttani che fa parte della dieta quotidiana da molto tempo (Panesar, Kumari, & Panesar, 2013). È ampiamente distribuito in natura e si trova naturalmente in porri, topinambur, asparagi, cicoria, cipolla, aglio e banana (Ashwini, et al., 2019). Inoltre, è stato stimato che un americano medio consuma circa 1–4 g di inulina al giorno, mentre in Europa il consumo medio giornaliero di inulina è stimato intorno ai 3-10 g (Bosscher, 2009). Chimicamente, l'inulina è composta da monomeri di fruttosio legati da un legame  $\beta$ -(2,1) contenente un'unità di glucosio per molecola legata da un legame  $\alpha$ -(1,2) (de Souza, Menezes, Cunha, Pereira, & Pinto, 2015). Numerosi studi hanno riportato che il consumo di inulina influisce positivamente sul metabolismo dei lipidi, migliora la salute dell'apparato digerente, aumenta l'assorbimento dei nutrienti e riduce il rischio di cancro e osteoporosi (Ahmed & Rashid, 2019). Inoltre, l'inulina è ampiamente utilizzata nel settore alimentare grazie alle sue interessanti proprietà tecnologiche come moderata solubilità in acqua, sostituto dei grassi, elevata stabilità, sostituto dello zucchero e modificatore di consistenza (Meyer, Bayarri, Tárrega, & Costell, 2011).

#### **1.2.5. Lattulosio**

Il lattulosio, chimicamente noto come 4-O- $\beta$ -D-galattopiranosil-D-fruttosio, è un disaccaride chetosio sintetico composto da due molecole di fruttosio e galattosio unite tra loro da un legame glicosidico  $\beta$ -(1,4) (Ait-Aissa & Aider, 2014) (Panesar & Kumari, 2011). Questi legami  $\beta$  non vengono digeriti nel tratto gastrointestinale umano né idrolizzati dagli enzimi digestivi e quindi passano direttamente nel colon (Kaur & Panesar, 2020). Gli studi hanno riportato che il consumo di lattulosio ha comportato una crescita significativa di *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* insieme all'inibizione di microrganismi patogeni (Mao, et al., 2016) (Zhai, Zhu, Qin, & Li, 2018). Per molto tempo il lattulosio

è stato utilizzato come lassativo che può essere utilizzato per il trattamento della stitichezza e dell'encefalopatia epatica (Panesar & Kumari, 2011). Inoltre, il lattulosio è disponibile in commercio sul mercato sottoforma di sciroppo giallo dolce trasparente e polvere bianca dolce. È altamente solubile in alcool e acqua ed è stabile a temperature e pH elevati (Schumann, 2002). Inoltre, il lattulosio è più dolce del lattosio e viene quindi utilizzato come sostituto dello zucchero per lo sviluppo di prodotti alimentari a basso contenuto calorico (Panesar & Kumari, 2011).

#### **1.2.6. Lattosaccarosio**

Il lattosaccarosio, chimicamente noto come  $\beta$ -D-galattopiranosil-(1,4)- $\alpha$ -D-glucopiranosil-(1,2)- $\beta$ -D-fruttofuranoside, è un trisaccaride non digeribile costituito da unità di glucosio, fruttosio e galattosio (Fujita, Ito, & Kishino, 2009). Di solito è prodotto dal processo di transfruttosilazione utilizzando gli enzimi levansucrasi e fruttofuranosidasi, o attraverso il processo di transgalattosilazione con l'enzima  $\beta$ -D-galattosidasi, utilizzando lattosio e saccarosio come substrati (Duarte, et al., 2017). Studi clinici hanno riportato che il consumo di lattosaccarosio è legato all'aumento della popolazione di *Bifidobacterium* spp. nelle feci umane insieme alla riduzione del numero di microbi tossici fecali come batterioidi e clostridi (Candela, Maccaferri, Turrone, Carnevali, & Brigidi, 2010). Oltre a ciò, il lattosaccarosio dimostra un alto grado di soglia lassativa e capacità di ritenzione idrica, che è responsabile del miglioramento della formazione fecale, della riduzione del rischio di diarrea e dell'aumento della peristalsi intestinale (Silvério, Macedo, Teixeira, & Rodrigues, 2015).

Inoltre, il lattosaccarosio può essere utilizzato nel settore alimentare per lo sviluppo di una varietà di alimenti funzionali (Mu, Chen, Wang, Zhang, & Jiang, 2013). Tuttavia, non è ancora completamente accettato come prebiotico e sono necessari ulteriori studi per dimostrare che soddisfi tutti i criteri richiesti per essere considerato un prebiotico.

#### **1.2.7. Isomalto-oligosaccaridi**

Gli isomalto-oligosaccaridi (IMO) sono oligosaccaridi composti da unità di glucosio legate tra loro da legami glicosidici  $\alpha$ -D-(1,6) e talvolta  $\alpha$ -D-(1,4) aventi un grado di polimerizzazione compreso tra 3 e 6 (Casci & Rastall, 2006)). Gli IMO sono naturalmente presenti nella salsa di soia, nel sakè, nel miso, nel miele e nel succo di canna da zucchero (Mohanty, Misra, Mohapatra, & Sahu, 2018). È stato osservato che il consumo di IMO aumenta significativamente la popolazione di *Bifidobacterium* spp. insieme a un ridotto rischio di costipazione e iperlipidemia (Tung, Yang, Chuang, Lin, & Chen, 2018) (Wu, et al., 2017). Inoltre, hanno attirato l'interesse del settore alimentare per lo sviluppo di alimenti

funzionali a basso contenuto calorico grazie alle loro caratteristiche desiderabili come bassa dolcezza, proprietà di carica e bassa viscosità (Chen, Lu, Lin, & Ko, 2001) (Panesar, Kumari, & Panesar, 2013).

### **1.3. Nuovi prebiotici**

I prebiotici si trovano naturalmente in una grande varietà di prodotti alimentari e sottoprodotti agricoli, ma in piccole quantità, pertanto ora sono prodotti sinteticamente in industrie su larga scala. Inoltre, si stanno compiendo sforzi per lo sviluppo di un processo sostenibile, efficiente, meno costoso e più semplice per la produzione di prebiotici.

I prebiotici sono prodotti fondamentalmente attraverso due metodi: metodi biotecnologici e chimici. La produzione chimica prevede l'uso di acidi e solventi che degradano/idrolizzano il substrato. Tuttavia, è stato segnalato che l'uso di metodi chimici porta alla formazione di una complessa miscela di prodotti con una varietà di collegamenti e strutture e quindi manca di specificità del prodotto. Inoltre, per questi processi sono richieste condizioni estreme e una lunga durata, che potrebbero comportare il degrado del prodotto (Torres, Gonçalves, Teixeira, & Rodrigues, 2010). Pertanto, tenuto conto di questi inconvenienti dei metodi chimici, vengono sempre più preferite le vie biotecnologiche, ovvero la sintesi di prebiotici mediante enzimi ([Tabella 11.3](#)).

Con la crescente domanda di prebiotici, la ricerca si pone l'obiettivo di espandere la collezione esistente di prebiotici con potenziali benefici per la salute. Inoltre, i prebiotici esistenti possono essere personalizzati, modulando la lunghezza della catena saccaridica e dei legami glicosidici o utilizzando una combinazione di diversi componenti bioattivi, al fine di conferire proprietà funzionali specifiche. È stato riportato che questi nuovi prebiotici possiedono legami speciali comprendenti sia unità zuccherine fermentabili che/o substrati fitochimici, che solo alcune specie microbiche specifiche possono scindere. È stato segnalato che questi prebiotici nuovi e su misura modulano beneficamente il microbiota intestinale e conferiscono benefici per la salute; tuttavia, sono necessarie ulteriori indagini per comprendere e convalidare il meccanismo sottostante attraverso studi clinici ben progettati (Parkar, Blatchford, Kim, Rosendale, & Ansell, 2015). Nelle sezioni successive andremo a vedere alcuni esempi.



### **1.3.1. Oligosaccaridi di soia**

Gli oligosaccaridi della soia sono carboidrati idrosolubili a basso peso molecolare composti principalmente da raffinoso e stachioso (Gibson, Probert, Van Loo, Rastall, & Roberfroid, 2004). Sono naturalmente presenti in grandi quantità nella soia (da 100 a 150 g/kg di soia) e possono essere estratte direttamente senza alcun processo enzimatico (de Souza, Menezes, Cunha, Pereira, & Pinto, 2015). L'estratto di oligosaccaride è noto per avere un gusto tipicamente più dolce del saccarosio e può quindi essere utilizzato come sostituto dello zucchero per lo sviluppo di alimenti a basso contenuto calorico. Questi oligosaccaridi sono resistenti alla digestione nell'intestino tenue e raggiungono il colon in forma inalterata, dove la fermentazione da parte degli enzimi del colon produce diversi effetti prebiotici nel corpo umano come la riduzione del rischio di cancro, osteoporosi e aterosclerosi (de Souza, Menezes, Cunha, Pereira, & Pinto, 2015). In uno studio, è stato valutato l'effetto dell'alimentazione di topi con oligosaccaridi di soia e si è concluso che questi oligosaccaridi modulavano significativamente il microbiota intestinale e aumentavano ulteriormente l'attività di immunoglobuline, cellule T, cellule NK e macrofagi, migliorando così la funzione immunologica nei topi (Ma, Wu, Giovanni, & Meng, 2017). Inoltre, uno studio clinico su donne affette da diabete gestazionale ha dimostrato che il consumo quotidiano di oligosaccaride di soia riduce significativamente lo stress ossidativo e migliora la resistenza all'insulina, riducendo così il rischio di diabete (Fei, Ling, Hua, Ren, & S.Y., 2014). Nonostante abbiano numerosi benefici per la salute, questi oligosaccaridi devono essere consumati in dosi moderate poiché dosi elevate possono causare disturbi intestinali e flatulenza.

### **1.3.2. Polisaccaridi di alghe**

Le microalghe o alghe marine sono una delle risorse più abbondanti nell'oceano (Zheng, Chen, & Cheong, 2020). Le alghe sono una coltura poco sfruttata e sostenibile che contiene una ricca diversità di composti bioattivi strutturalmente vari, in particolare polisaccaridi che hanno una vasta gamma di attività biologiche come attività antiossidanti, anticoagulanti, antivirali, antinfiammatorie e antidiabetiche (Praveen, Parvathy, Balasubramanian, & Jayabalan, 2019). Pertanto, i polisaccaridi delle alghe hanno suscitato grande interesse per numerose applicazioni terapeutiche e industriali nei settori alimentare, biotecnologico e farmaceutico (Imbs, Ermakova, Malyarenko, Isakov, & Zvyagintseva, 2016). Le alghe marine non vengono digerite nell'intestino tenue e sono sottoposte a fermentazione nel colon da parte di microrganismi del colon che rilasciano SCFA, esercitando così effetti prebiotici sulla salute umana. Sono stati riportati numerosi studi sugli animali in vitro e in vivo

sugli effetti prebiotici delle alghe marine; tuttavia, gli studi sull'uomo devono ancora essere esplorati (Conlon & Bird, 2015). La capacità fermentativa dei principali polisaccaridi delle alghe marine è stata dimostrata tramite test di fermentabilità microbica e fermentazione fecale in vitro e una crescita di microrganismi intestinali specifici (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus* e *Bacteroides*) insieme ad alti livelli di SCFA (lattato, acetato e propionato) che ha confermato che questi polisaccaridi potrebbero avere effetti prebiotici sull'intestino umano (Seong, et al., 2019). Allo stesso modo, uno studio in vivo sui ratti ha riportato gli effetti prebiotici di *Ecklonia radiata* (alga bruna) generando livelli elevati di SCFA e livelli ridotti di fenolo, p-cresolo e microrganismi patogeni (Charoensiddhi, et al., 2017).

Sono però necessarie ulteriori ricerche per comprendere le proprietà fisico-chimiche delle alghe durante la fermentazione e il meccanismo degli effetti prebiotici specifici.

**Table 11.3** Summary of enzymatic process for the production of different prebiotics.

Type of prebiotic	Enzyme used	Microbial source	Substrate	Type of fermentation process	Process conditions	Yield	Reference
FOS	Inulinase	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Inulin	Shake flask fermentation	Substrate concentration 200 g/L; temperature 40 °C; time 24 h	0.9 g/g	Wang <i>et al.</i> (2016)
XOS	Xylanase	Xylanase and arabinofuranosidase	Kenaf stem	Enzymatic hydrolysis	Temperature 40 °C; pH 4.0; time 48 h	351.46 mg/g	Azelee <i>et al.</i> (2016)
GOS	$\beta$ -Galactosidase	<i>Bacillus circulans</i>	Lactose	Continuous packed bed reactor	Substrate concentration 100 g/L; temperature 45 °C; time 48 h	24.2 g/L	Rodriguez-Colinas <i>et al.</i> (2016)
Lactulose	Cellulobiose 2-epimerase	<i>Caldicellulosiruptor saccharolyticus</i>	Whey powder	Enzymatic membrane reactor	Substrate concentration 84.5 g/L; time 16 h; temperature 70 °C; enzyme concentration 7.5 U/mL	58.5%	Wu L <i>et al.</i> (2017)
FOS	-	<i>Aspergillus ibericus</i>	Sucrose	Shake flask fermentation	Temperature 37 °C; pH 6.2; time 38 h	0.64 g/g	Nobre <i>et al.</i> (2018)
GOS	$\beta$ -Galactosidase	<i>Aspergillus oryzae</i>	Whey permeate	Packed bed reactor	Feed flow rate 0.5 mL/h; pH 5.2; temperature 60 °C	39.3%	Eskandarloo and Abbaspourrad (2018)
XOS	Xylanase	<i>Thermomyces lanuginosus</i>	Beechwood xylan	Mixing reactors	Time 24 h; pH 5.3; temperature 50 °C	9.18 mg/mL	Guido <i>et al.</i> (2019)
FOS	-	<i>Aspergillus oryzae</i>	Aguamiel sucrose	Glass reactor	Time 24 h	20.30 g/L	Muñiz-Márquez <i>et al.</i> (2019)
Lactulose	$\beta$ -Galactosidase	<i>Aspergillus oryzae</i>	Fructose and lactose	Packed bed reactor	Temperature 50 °C; pH 4.5; fructose/lactose molar ratio 12	0.6 g/g	Guerrero <i>et al.</i> (2019)
GOS	$\beta$ -Galactosidase	<i>Bacillus circulans</i>	Lactose	Enzyme membrane reactor	Temperature 50 °C; pH 6.0; substrate concentration 300 g/kg; flow rate 0.18 m <sup>3</sup> /h	33%	Cao <i>et al.</i> (2020)
GOS	$\beta$ -Galactosidase	<i>Klebsiella oxytoca</i>	Lactose	Shake flask fermentation	Substrate concentration 2.5 U/g; pH 7.0; temperature 40 °C; time 84 h	45.5% w/w	Huang <i>et al.</i> (2020)
Lactulose	$\beta$ -Galactosidase	<i>Kluyveromyces lactis</i>	Cheese whey	-	Temperature 40 °C; pH 7.0	17.32 g/L	de Freitas <i>et al.</i> (2020)

FOS, fructooligosaccharides; GOS, galactooligosaccharides; XOS, xylooligosaccharides.

Source: D. Panwar, P. S. Panesar and A. Saini (2022). Probiotics, Prebiotics and Synbiotics: Technological Advancements Towards Safety and Industrial Applications. *Prebiotics and their Role in Functional Food Product Development*, 233-271.

#### 1.4. Modalità di azione

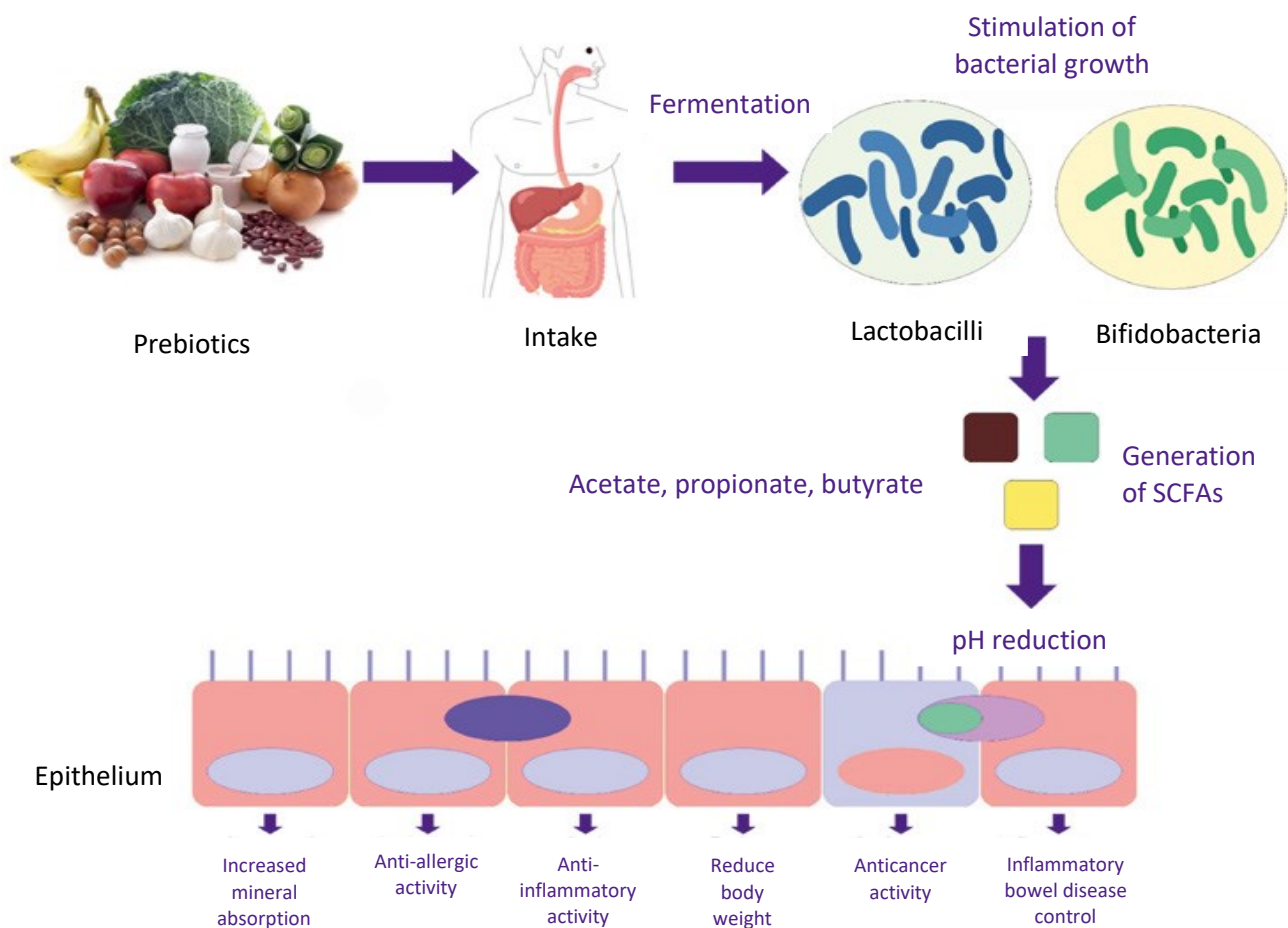
A causa dei problemi di resistenza ai patogeni e delle complicanze agli antibiotici, c'è un crescente interesse per il potenziale di strategie alternative sia per la prevenzione che per il trattamento delle malattie infettive. Questo è in particolare il caso dei prebiotici, che hanno attirato una crescente

attenzione da parte della comunità scientifica per motivi di studio. Da un lato, i composti prebiotici esercitano la loro attività antinfettiva indirettamente stimolando la composizione e/o l'attività dei batteri commensali presenti nell'intestino (meccanismi microbio-dipendenti), che vanno poi a produrre un'ampia gamma di effetti che conferiscono all'ospite una maggiore resistenza alla colonizzazione. D'altra parte, alcuni composti sono stati attribuiti anche come dotati di nuove attività antinfettive indipendenti dagli effetti prebiotici esercitati sui batteri commensali, come quelli derivanti dall'interazione diretta con il sistema immunitario o con i patogeni stessi (meccanismi indipendenti dal microbiota).

Dopo aver raggiunto il colon, i prebiotici interagiscono con i microbi buoni del colon come *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* e solitamente vengono fermentati da essi, il che si traduce nella produzione di SCFA (acetato, propionato e butirato) (Grajek, Olejnik, & Sip, 2005). È stato riscontrato che la produzione di SCFA ha un profondo effetto sulla salute dell'ospite in quanto riduce il pH del colon e crea un ambiente che inibisce la crescita di microrganismi patogeni, svolgendo così un ruolo importante nel ridurre il rischio di diverse malattie croniche come il cancro, obesità e infezioni gastrointestinali (Sun & O'Riordan, 2013). Inoltre, gli SCFA mostrano proprietà antimicrobiche, regolano beneficamente le vie metaboliche, forniscono energia alle cellule, stimolano l'omeostasi influenzando la stabilità dell'epitelio del colon e funzionano come molecole di segnalazione per recettori specifici (Aachary & Prapulla, 2011). È stato anche riportato che hanno diverse proprietà immunomodulatorie come la produzione di citochine pro-infiammatorie (Parada Venegas, et al., 2019) (Van der Beek, Dejong, Troost, Masclee, & Lenaerts, 2017).

Oltre a questo, i prebiotici hanno una vasta gamma di benefici sull'intestino umano poiché modulano la composizione e l'attività della microflora intestinale, che successivamente migliora l'assorbimento dei nutrienti e modifica le funzioni intestinali oltre a migliorare il metabolismo dei lipidi (Van Loo, Clune, Bennett, & Collins, 2005). Ciò è probabilmente dovuto al fatto che l'utilizzo degli SCFA come fonte di energia da parte di specifici microrganismi intestinali benefici può avere un profondo impatto sul metabolismo e sulla composizione del microbiota intestinale (Markowiak & Ślizewska, 2017). Inoltre, è stato segnalato che i prebiotici aumentano il livello di mucina, che è responsabile del miglioramento della funzione di barriera intestinale. Il consumo di prebiotici porta anche ad un aumento delle cellule epiteliali intestinali che fornisce uno strato più spesso di protezione alla parete intestinale mediante la secrezione di muco (Stoidis, Misiakos, Patapis, Fotiadis, & Spyropoulos, 2011) (Zhong, et al., 2009). Pertanto, attraverso la produzione di sostanze

antimicrobiche e la competizione per i nutrienti e l'adesione epiteliale, il microbiota intestinale funge da barriera per i microrganismi patogeni (Duncan, 2013). Nonostante tutti gli sforzi fatti per comprendere il meccanismo d'azione dei prebiotici, i meccanismi coinvolti in questo processo non sono ancora chiari. Inoltre, a causa delle differenze nelle strutture chimiche dei prebiotici, sono necessari sforzi per comprendere il loro effetto individuale e i benefici per la salute. Il meccanismo dei prebiotici è illustrato nella [Figura 11.4](#).



**Figure 11.4** Mechanism of action of prebiotics. *Source:* Adapted from Biswal, P., Pal, A. and Das, A.P. (2017). Current trends and future prospective of prebiotics as therapeutic food. *Microbial Production of Food Ingredients and Additives*, 57–88. SCFAs, short chain fatty acids.

### 1.5. Fermentabilità e selettività dei prebiotici

I carboidrati che arrivano al cieco sono possibili substrati per la fermentazione dei batteri e molte prove supportano questo principio. In numerosi studi sull'alimentazione umana, l'inulina e il FOS

nelle feci non erano rilevabili (Molis, Lourie, & Ouarne, 1996); ci sono dati da esperimenti sia in vitro che in vivo sulla fermentazione di questi carboidrati da parte dei batteri dell'intestino crasso. Studi sperimentali in vitro indicano che diversi acidi grassi a catena corta (SCFA) migliorano la sopravvivenza e l'attività batterica (Van Laere, Bosveld, Schols, Beldman, & Voragen, 1997).

Ceppi speciali di bifidobatteri crescono bene sull'oligofruttosio (Gibson, Beatty, Wang, & Cummings, 1995). Van Laere et al. (1997) hanno estratto diversi prebiotici con composizione zuccherina e dimensioni molecolari ampiamente differenti ed hanno esaminato la loro fermentazione da diversi ceppi di *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Bacteroides* e *Lactobacillus*. Hanno scoperto che la fermentazione degli oligosaccaridi varia in base alla loro struttura che potrebbe essere lineare o ramificata. Gli oligosaccaridi lineari si decompongono in misura maggiore rispetto a quelli con strutture ramificate e i bifidobatteri utilizzano prima carboidrati a basso grado di polimerizzazione mentre i batterioidi utilizzano quelli con un alto grado di polimerizzazione (Cummings, Macfarlane, & Englyst, 2001).

Il prebiotico è un substrato selettivo per uno o un numero limitato di probiotici, i quali sono stimolati a crescere e produrre acidi grassi a catena corta dai prebiotici. Di conseguenza, il prebiotico sarà in grado di alterare il microbiota del colon dell'ospite verso una composizione più sana. Per confermare la selettività di un prebiotico è importante monitorare accuratamente i cambiamenti nel microbiota fecale durante la supplementazione di prebiotici sia in vitro che in vivo (Kolida & Gibson, 2011).

#### **1.6. Digeribilità dei prebiotici**

I prebiotici raggiungono il cieco senza essere digeriti a causa della loro natura chimica. Una parte del materiale non viene digerito dagli enzimi pancreatici e dell'intestino tenue nell'intestino umano e quindi raggiunge l'intestino crasso. Gli studi hanno riportato che quando si somministrava inulina o oligofruttosio a soggetti ileostomici, il normale recupero nell'ileo terminale del materiale somministrato era compreso tra l'86% e l'89% (Ellegard, Andersson, & Bosaeus, 1997). Allo stesso modo, quando le sostanze intestinali sono state aspirate dall'ileo terminale dopo aver mangiato cibi sperimentali, è stato recuperato l'89% di oligofruttosio (Molis, Lourie, & Ouarne, 1996).

Ulteriori prove di non digeribilità erano condizionali poiché alcuni studi hanno dimostrato che in seguito all'ingestione di prebiotici, la secrezione di idrogeno nel respiro era aumentata. Il chestosio

(GF2) e il nistoso (GF3) sono stati difficilmente digeriti quando sono stati incubati in vitro con la saliva umana o enzimi pancreatici di ratto (Hidaka, Eida, Takizawa, Tokunaga, & Tashiro, 1986).

La glicemia non è cambiata quando 25 g di una combinazione di frutto-oligosaccaridi di GF2, GF3 e fruttofuranosil nistoso (GF4) sono stati forniti a esseri umani sani (Hidaka, Eida, Takizawa, Tokunaga, & Tashiro, 1986). Un'osservazione simile è stata fatta quando i fruttani estratti dal topinambur (30% inulo-eptasio (GF7)) (5, 10 o 20 g) sono stati consumati da soli o con altri carboidrati (Rumessen, Bode, Hamberg, & Gudman-Hoyer, 1990). Le frazioni di fruttani di cereali sono state incubate per 1 ora con succo gastrico umano fresco proveniente da 12 soggetti, e hanno dimostrato che a pH 1,0 circa il 10-15% è stato idrolizzato, mentre quando sono stati incubati con mucosa intestinale di ratto omogeneizzata, la percentuale di idrolisi è risultata <1% (Nilsson, Oste, Jagerstad, & Birkhed, 1988).

## **2. ALIMENTI FUNZIONALI**

Nel corso degli anni sono state molte le definizioni attribuite agli alimenti funzionali, tra cui alimenti commercializzati con indicazioni sulla salute, fonti di cibo con proprietà fisiologiche positive supplementari ai loro usi nutrizionali di fornitori di nutrienti essenziali, e sostanze naturali che possono essere consumate quotidianamente intese a regolare o influenzare un sistema del corpo dopo l'ingestione (Rivera, Bocanegra-García, & Monge, 2010) (Maroyi, 2019). L'ultima definizione fornita, secondo il consenso europeo, afferma che "un alimento può essere considerato funzionale se è dimostrato in modo soddisfacente che influisce in modo benefico su una o più funzioni bersaglio dell'organismo, al di là di adeguati effetti nutrizionali, contribuendo in maniera rilevante al miglioramento dello stato di salute e benessere e/o alla riduzione del rischio di malattia" (Roberfroid M. , 2000). Possiamo trovare alimenti funzionali naturali, con componenti aggiunti o eliminati tramite processi biotecnologici (Ukeyima, V.N., & Sanni, 2010). Gli ingredienti degli alimenti funzionali basati su fattori tecnologici possono aiutare a prevenire alcune malattie o migliorare le prestazioni e il benessere dei consumatori al di là del loro ruolo nutrizionale, sia per quanto riguarda l'intera popolazione che per gruppi specifici di essa definiti dall'età o da differenze genetiche (Arvanitoyannis & Van Houwelingen-Koukaliaroglou, 2005) (Silva, Albuquerque, Alves, Oliveira, & Costa, 2020).

Infatti, gli alimenti funzionali sono stati classificati in base al tipo di alimento o ai componenti attivi aggiunti o naturalmente presenti negli alimenti come ad esempio fibre, flavonoidi, vitamine, minerali, acidi grassi, carotenoidi, e così via (Ashaolu, 2019) Alcuni alimenti funzionali, come ad esempio prebiotici e probiotici, vengono considerati farmaci microbici in grado di colpire l'obesità, la sindrome metabolica (Green, Arora, & Prakash, 2020), l'ipertensione, l'ossidazione, il danno cellulare e altre malattie da fonti/materie prime come verdure, cereali, latticini e prodotti a base di carne (Silva, Albuquerque, Alves, Oliveira, & Costa, 2020) (Ashaolu, 2020) (Das, et al., 2020). È stato dimostrato che flavoni, catechine e antocianidine possiedono proprietà antiossidanti andando a chelare i radicali liberi e a ridurre l'incidenza di alcune malattie croniche, mentre a luteina e licopene sono stati associati benefici per la salute che includono la riduzione della degenerazione maculare e del rischio di cancro alla prostata. Precedentemente minerali essenziali ed elementi dietetici quali calcio, ferro, zinco e vitamine erano inclusi nella produzione di alimenti funzionali; ora prebiotici e probiotici sono considerati molto importanti e risultano tra i più studiati, ed hanno la capacità di rafforzare lo stato immunitario dei consumatori (Guimaraes, et al., 2020), sfruttando i loro benefici

immunomodulatori e di potenziamento immunitario e interagendo in un processo definito “simbiotico” per aumentare l’immunità dell’ospite umano.

### **2.1. Applicazione di prebiotici nei prodotti alimentari funzionali**

L’utilizzo dei prebiotici come componenti alimentari ha molteplici vantaggi, poiché migliorano le caratteristiche sensoriali e contribuiscono ad una composizione nutrizionale più equilibrata (Franck & Coussement, Multi-functional inulin, 1997). Quando i prebiotici vengono utilizzati nei prodotti da forno e nei cereali per la colazione, ciò rappresenta un progresso importante rispetto all’utilizzo della fibra alimentare classica. I prebiotici forniscono freschezza agli snack e ai cereali e ne prolungano la durata di conservazione, oltre a consentire un lungo mantenimento anche per pane e dolci sia umidi che freschi. La loro solubilità consente l’incorporazione delle fibre in sistemi liquidi come bevande, latticini e creme spalmabili. I prebiotici sono spesso utilizzati anche come fibre alimentari in compresse e negli alimenti funzionali, in particolare in intere gamme di prodotti lattiero-caseari e pane poiché gli ingredienti prebiotici migliorano la vitalità di batteri intestinali sani (Walter, 1999).

Grazie alle loro proprietà gelificanti, i prebiotici migliorano cibi grassi senza alcun effetto negativo sul gusto o sulla consistenza. Questo è importante in prodotti come creme spalmabili da tavola, prodotti simili al burro, creme spalmabili a base di latte, formaggi cremosi e formaggi fusi. L’aggiunta di prebiotici consente la sostituzione di una notevole quantità di grasso e il mantenimento dell’emulsione, offrendo allo stesso tempo una consistenza spalmabile. Risultati eccezionali sono stati trovati negli spread acqua nell’olio (Zimeri & Kokini, 2003). L’aggiunta di prebiotici ai prodotti a base di carne a ridotto contenuto di grassi porta ad avere in bocca una sensazione di maggiore cremosità e succosità perché viene mantenuta la ritenzione idrica. I prebiotici sono stati aggiunti anche come ingredienti a basso contenuto energetico e come fibre nei prodotti a base di cioccolato senza zuccheri aggiunti. I prodotti dietetici hanno mostrato lo sviluppo più forte nel mercato lattiero-caseario, in particolare per gli yogurt dietetici contenenti frutta (Miremadi & Shah, 2012). L’aggiunta di prebiotici nella ricetta durante la preparazione della frutta migliora la sensazione in bocca, diminuisce la sineresi e presenta un risultato gustativo sinergico in combinazione con aspartame e acesulfame K, senza alcun aumento significativo del contenuto calorico (Franck, 2002).



## **2.2. Prebiotici come sostituti dei grassi**

I prebiotici che riducono il valore calorico degli alimenti possono essere utilizzati per risolvere alcuni problemi fisici e sensoriali derivanti da un basso livello di grassi nei prodotti finali. I sostituti del grasso consistono in miscele di sostituti del grasso di origine lipidica, mimetici di grasso di origine proteica o carboidrati o loro combinazioni.

### **2.2.1. Effetti dei prebiotici sulle caratteristiche chimiche dello yogurt**

L'aggiunta di inulina allo yogurt non ha influenzato l'acetaldeide, il pH e l'acidità titolabile (Güven, Yasar, Karaca, & Hayaloglu, 2005); i livelli di tirosina e acidità grassa volatile sono invece stati influenzati in maniera negativa dall'aggiunta di inulina. I sostituti dei grassi, quali Simplese e Dairy-Lo, vengono utilizzati anche per ridurre il contenuto di grassi dello yogurt. Simplese è una polvere spray microparticellare essiccata che imita il grasso emulsionato formando una fase dispersa di particelle che sono libere di muoversi in modo indipendente. Dairy-Lo è classificato come un sostituto del grasso a base di proteine e deriva dal concentrato di proteine del siero di latte. È infatti un concentrato di proteine del siero di latte modificato che forma una rete gelificata quando viene riscaldato al di sopra della temperatura di denaturazione delle proteine (Yazici & Akgun, 2004). Lo yogurt contenente il prebiotico mostrava un pH significativamente più basso rispetto agli altri yogurt (Aryana, Plauche, Rao, McGrew, & Shah, 2007).

### **2.2.2. Effetti dei prebiotici sulle misurazioni reologiche dello yogurt**

Un'aggiunta di inulina superiore all'1% ha aumentato la consistenza e la separazione del siero dallo yogurt (Güven, Yasar, Karaca, & Hayaloglu, 2005). La quantità di sostituto del grasso e il tempo di conservazione hanno avuto un effetto significativo sulle proprietà fisiche, chimiche, strutturali e sensoriali degli yogurt colati (Yazici & Akgun, 2004). Gli yogurt contenenti inulina presentavano una sineresi minore rispetto allo yogurt di controllo e avevano un corpo e una consistenza migliori rispetto ad altri yogurt (Aryana, Plauche, Rao, McGrew, & Shah, 2007). L'analisi ha mostrato che viscosità, leggerezza e densità hanno contribuito alla sensazione cremosa in bocca degli yogurt; la densità è stata influenzata significativamente dalla presenza di inulina (Kip, Meyer, & Jellema, 2006). La caratterizzazione reologica è stata eseguita mediante saggi dinamici, di taglio e di compressione-estrusione e non è stata notata alcuna differenza (Dello Staffolo, Bertola, Martino, & Bevilacqua, 2004). L'incorporazione della fibra ha aumentato la consistenza degli yogurt, soprattutto se la fibra è stata estratta con etanolo e poi liofilizzata. Tuttavia, non ci sono stati cambiamenti significativi nel

comportamento viscoelastico con nessuno dei tipi di fibre (Sanz, Salvador, Jiménez, & Fiszman, 2008).

### **2.2.3. Effetti dei prebiotici sulla valutazione sensoriale dello yogurt**

Per quanto riguarda la qualità sensoriale dello yogurt, l'aggiunta di inulina ha determinato una diminuzione dei punteggi sensoriali: lo yogurt di controllo ha ottenuto il punteggio più alto mentre il punteggio più basso è stato ottenuto dai campioni di yogurt contenenti il 3% di inulina. Nel complesso, lo yogurt contenente l'1% di inulina si presentava simile per caratteristiche qualitative allo yogurt di controllo a base di latte intero (Güven, Yasar, Karaca, & Hayaloglu, 2005).

Lo yogurt contenente inulina aveva punteggi di sapore paragonabili a quelli dello yogurt di controllo (Aryana, Plauche, Rao, McGrew, & Shah, 2007). L'inulina può essere utilizzata con successo per migliorare la sensazione cremosa in bocca degli yogurt magri (Kip, Meyer, & Jellema, 2006). Per quanto riguarda il colore, solo lo yogurt con fibre di mela ha mostrato differenze rispetto al controllo. Anche se le fibre hanno modificato alcune caratteristiche reologiche dello yogurt bianco, i relatori hanno ritenuto accettabili gli yogurt integrati (Dello Staffolo, Bertola, Martino, & Bevilacqua, 2004). La fibra diminuiva la limpidezza e conferiva allo yogurt un colore giallo-verdastro, che variava anche a seconda del metodo di estrazione ed essiccazione, risultando più colorati gli yogurt contenenti fibre estratte con l'acqua. Il campione più apprezzato per aroma, gusto, consistenza ed accettazione generale secondo un test tra i consumatori è stato lo yogurt contenente fibra estratta con acqua ed essiccata in forno mentre per quanto riguarda il colore il più apprezzato conteneva fibra estratta con etanolo e liofilizzata.

La fibra ottenuta con i diversi metodi disponibili era ugualmente compatibile con l'arricchimento dello yogurt (Sanz, Salvador, Jiménez, & Fiszman, 2008).

## **2.3. Effetto dei prebiotici sulla crescita dei probiotici**

### **2.3.1. Latte materno e fattore bifidus**

Le feci dei bambini allattati al seno contengono il 99% di bifidobatteri nel loro microbiota, mentre nei bambini allattati con latte artificiale è presente una microflora intestinale molto più varia. Il latte materno contiene oligosaccaridi e composti aggiuntivi che incoraggiano la vitalità e l'attività dei bifidobatteri, e ciò è stato definito come "fattore bifidus". I bambini allattati al seno mostrano diversi benefici a livello intestinale e respiratorio rispetto ai bambini allattati artificialmente; in particolare nei paesi in via di sviluppo, i problemi di igiene con il biberon sono considerati la causa principale di

questa dissomiglianza. Tuttavia, anche le proprietà antinfettive del latte materno fanno la loro parte (Filteau & Tomkins, 1994). Il “fattore bifidus” nel latte materno è uno dei tanti modi in cui il latte materno può conferire, direttamente o indirettamente, proprietà antinfettive.

### **2.3.2. Effetto dei prebiotici sulle conte vitali dei probiotici**

Le dosi bifidogeniche di successo differiscono in base ai diversi tipi di oligosaccaridi. È stato confermato che la maggior parte degli oligosaccaridi aumenta il numero di bifidobatteri nel colon (Crittenden & Playne, 1996). Diversi autori hanno raccomandato l'ingestione di 10 g/die di galattooligosaccaridi come dose adeguata a provocare un effetto bifidogeno. L'ingestione giornaliera di 2,5 g di prebiotici/die è sufficiente per aumentare i livelli di bifidobatteri fecali (Gibson G. , 1999) (Sako, Matsumoto, & Tanaka, 1999). Le quantità di altri oligosaccaridi non digeribili (NDO) essenziali per gli effetti bifidogeni sono simili a quelle dei galattooligosaccaridi. Per gli xilooligosaccaridi, 2 g/die sono considerati sufficienti per incorrere in un effetto bifidogeno (Sako, Matsumoto, & Tanaka, 1999), mentre Rivero-Urgell e Santamaria-Orleans (2001) hanno riportato che l'assunzione di frutto-oligosaccaridi (FOS) necessaria per agire come stimolo bifidogeno è compresa tra 2 e 10 g/die negli adulti. Tuttavia, sarebbero necessari almeno 4 g di FOS/giorno per aumentare i livelli di bifidobatteri nell'intestino umano (Manning & Gibson, 2004); la quantità giornaliera necessaria per gli isomalto-oligosaccaridi è compresa tra 8 e 10 g (Goulas, Fisher, Grimble, Grandison, & Rastall, 2004). L'aggiunta di inulina ai prodotti alimentari come prebiotico potrebbe migliorare la vitalità e l'attività dei batteri probiotici (Nazzaro, Fratianni, Coppola, Sada, & Orlando, 2009), come *L. casei* LC-01 (Paseephol & Sherkat, 2009). Le popolazioni del genere *Bifidobacterium*, del gruppo *Lactobacillus-Enterococcus* e del gruppo *Atopobium* sono tutte significativamente aumentate in seguito all'idrolizzazione di glucomannano di konjac e alla fermentazione dell'inulina (Connolly, Lovegrove, & Tuohy, 2010). La pectina e l'inulina del kiwi invece, migliorano anche l'adesione di *L. rhamnosus* e riducono l'adesione della *Salmonella typhimurium* alle cellule Caco-2; l'inulina e la pectina di agrumi migliorano significativamente l'adesione del *Bifidobacterium bifidum* alle cellule Caco-2 (Parkar, et al., 2010).

### **3. IMPATTO DEI PREBIOTICI SULLE INFEZIONI DA AGENTI PATOGENI BATTERICI**

L'idea che una delle funzioni più importanti del microbiota intestinale sia quella di proteggere l'organismo ospite dalla colonizzazione da parte di agenti patogeni in seguito alla loro ingestione non è nuova. Il concetto di "resistenza alla colonizzazione" è stato quindi introdotto da van der Waij e i suoi collaboratori già nel 1971 (van der Waij, Berghuis-De Vries, & Lekkerkerk-van der Wees, 1971), e si basa sull'idea che qualsiasi nuovo batterio introdotto nell'intestino deve competere con il microbiota consolidato per le nicchie ecologiche disponibili (nutrienti, siti di adesione) al fine di persistere nell'intestino (Freter, Brickner, Fekete, Vickerman, & Carey, 1983) (Freter, Stauffer, Cleven, Holdeman, & Moore, 1983). I batteri intestinali possono anche contribuire alla resistenza alla colonizzazione attraverso la stimolazione immunitaria, la produzione di specifiche sostanze antimicrobiche (batteriocine), o attraverso il rilascio di prodotti metabolici, acidi grassi a catena corta (SCFA), che abbassano il pH intestinale a livelli inferiori a quelli ottimali per la crescita di agenti patogeni e va a migliorare i meccanismi di difesa epiteliale e immunitaria (Fukuda, et al., 2011) (Gibson, McCartney, & Rastall, 2005) (Gorbach, Barza, Giuliano, & Jacobus, 1988). Fukuda e i suoi collaboratori hanno dimostrato che la produzione di acetato nel colon distale, ad opera di alcuni bifidobatteri specializzati che codificano per uno specifico trasportatore di carboidrati, previene, nel topo, la traslocazione della tossina shiga dal lume intestinale al sangue in caso di infezione enteropatogena (Fukuda, et al., 2011).

#### **3.1. Prebiotici e disturbi gastrointestinali**

##### **3.1.1. Gastroenterite acuta**

La gastroenterite acuta è un tipo di infezione intestinale che si verifica quando viene ingerito cibo o acqua contaminati da microrganismi tossici o dalle loro tossine. Questa malattia è solitamente causata da agenti patogeni come *Clostridium perfringens*, *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella* e *Shigella* (Al-Sheraji, et al., 2013). Questi agenti patogeni colonizzano l'intestino e crescono utilizzando i carboidrati presenti in esso e legandosi vanno quindi ad infettare l'ospite. Inoltre, i patogeni secernono tossine che contaminano il cibo ancor prima che venga consumato, e queste successivamente interrompono la funzione della mucosa intestinale, provocando così diarrea, nausea, vomito e dolore addominale (Joshi, Roy, & Banerjee, 2018). Il consumo di prebiotici riduce il rischio di gastroenterite acuta modulando la microflora intestinale (aumento della popolazione di *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*) e producendo SCFA che abbassano

il pH dell'intestino, fornendo così protezione da questi patogeni (Vernazza, Rabiou, & Gibson, 2006). Inoltre, i prebiotici mostrano proprietà antiadesive poiché competono per i carboidrati e agiscono come agenti bloccanti per inibire il legame dei patogeni (Al-Sheraji, et al., 2013). Ad esempio, l'integrazione giornaliera di una combinazione di prebiotici (GOS e FOS) in un rapporto di 9:1 nei ratti ha comportato un miglioramento della consistenza delle feci e ha anche ridotto significativamente la diffusione virale, esibendo così un'azione protettiva contro la gastroenterite acuta causata da rotavirus (Rigo-Adrover, et al., 2017).

### **3.1.2. Obesità**

L'obesità è una malattia cronica caratterizzata dall'accumulo di grasso in eccesso nel corpo come conseguenza del consumo di una quantità di energia superiore a quella spesa (Ejtahed, et al., 2019). Di solito è correlata ad altre malattie croniche, tra cui disturbi cardiovascolari, cancro, diabete e ipertensione (Klancic & Reimer, 2020). Gli studi hanno dimostrato che il microbiota intestinale svolge un ruolo importante nello sviluppo dell'obesità; pertanto, il consumo di prebiotici funge da alternativa terapeutica per ridurre il rischio (Shao, et al., 2017). I prebiotici alterano le popolazioni del microbiota intestinale comportando la riduzione dei batteri patogeni Firmicutes e Bacteroidetes insieme all'aumento della crescita di Bifidobacterium e Lactobacillus, influenzando l'appetito dell'ospite, l'omeostasi del glucosio e l'infiammazione, riducendo così le possibilità di obesità (Delgado & Tamashiro, 2018) (Diez-Echave, et al., 2020) (Zhang, et al., 2020). Inoltre, il consumo di prebiotici è legato all'aumento della secrezione di ormoni che regolano l'energia tra cui il peptide-1 simile al glucagone (GLP-1), il peptide-2 simile al glucagone (GLP-2), l'ossintomodulina (OXM), la leptina e il peptide YY (PYY) insieme a una proporzione ridotta di ormoni orogenici inclusa la grelina, che influenza la regolazione del metabolismo, dell'appetito e dell'obesità (de Paulo Farias, de Araújo, Neri-Numa, & Pastore, 2019) (Posovszky & Wabitsch, 2015).

### **3.1.3. Diabete**

Il diabete mellito di tipo due è una delle principali cause di morte nel mondo, legato fondamentalmente a disturbi metabolici e anomalie del sistema immunitario (Dehghan, Farhangi, Tavakoli, Aliasgarzadeh, & Akbari, 2016). Il consumo di prebiotici è stato collegato a un ridotto rischio di diabete in quanto può sopprimere la concentrazione di citochine infiammatorie, tra cui IL-6, IL-2 e interferoni (Leylabadlo, Sanaie, Heravi, Ahmadian, & Ghotaslou, 2020). Oltre a questo, è stato riportato che i prebiotici aumentano significativamente la citochina antinfiammatoria IL-4, che

inibisce ulteriormente la produzione del fattore di necrosi tumorale (TNF) e della prostaglandina-2 oltre a regolare le funzioni delle cellule T-helper, riducendo in tal modo il rischio di diabete (Dehghan, Farhangi, Tavakoli, Aliasgarzadeh, & Akbari, 2016). Inoltre, il consumo di prebiotici può aiutare a ridurre il rischio di diabete migliorando il metabolismo del glucosio nell'intestino modulando l'asse microbioma intestinale-cervello e aumentando la resistenza all'insulina (Ahmadi, et al., 2019).

#### **3.1.4. Riduzione del rischio di cancro del colon**

Il cancro del colon è classificato come la terza malattia cronica più comune tra gli individui e rappresenta un importante problema di salute pubblica. Questa malattia è in rapido aumento a causa dei gravi cambiamenti nello stile di vita e nelle abitudini alimentari dei consumatori, tra cui un elevato consumo di alcol, carne, grassi e tabacco (Ahmad & Khalid, 2018). Inoltre, è riportato in individui con una storia familiare di cancro al colon. È noto che il cancro del colon insorge a causa della produzione di metaboliti cancerogeni e tossine da parte di alcune specie particolari della microflora intestinale che possono portare a mutazioni nei tessuti e all'interruzione della natura eterozigote dei geni oncosoppressori, portando così all'attivazione di oncogeni (Ashwini, et al., 2019).

Pertanto, l'interazione gene-ambiente intestinale e il microbiota intestinale possono avere un effetto considerevole sulla suscettibilità e sull'incidenza del cancro del colon (Sharma & Shukla, 2016). È stato riportato che il consumo di prebiotici riduce il rischio di cancro al colon stimolando la crescita di *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, che inibisce la crescita di agenti cancerogeni nell'intestino umano. Inoltre, è stato riportato che la generazione di SCFA dopo la fermentazione del prebiotico mostra effetti antinfiammatori sulle cellule tumorali e migliora il processo di disintossicazione (Rafter, et al., 2007). Ad esempio, il butirrato generato dalla fermentazione del GOS riduce le metastasi e stimola il processo di apoptosi nelle linee cellulari del colon (Wu, et al., 2018). Inoltre, in uno studio, è stato riportato che una miscela di acetato, butirrato e propionato (SCFA) fornisce effetti terapeutici contro il cancro del colon associato alla colite limitando l'espressione di citochine pro-infiammatorie come IL-6, TNF- $\alpha$  e IL-17 e inducendo l'apoptosi nelle linee cellulari di cancro del colon (Tian, Xu, Sun, Ye, & Ji, 2018). I prebiotici riducono anche il rischio di cancro riducendo i livelli di acido indolo e isovalerico, che sono noti per essere marcatori di putrefazione (Ito, et al., 1990).

### **3.1.5. Assorbimento minerale**

L'assorbimento di calcio e magnesio è fondamentale per la struttura ossea e un aumento dell'assorbimento può prevenire condizioni come l'osteoporosi. Chonan, Takahashi e Watanuki (2001) hanno dimostrato che aggiungendo galattooligosaccaridi (GOS) nella dieta dei ratti possiamo notare un aumento dell'assorbimento di calcio e magnesio. Il meccanismo con cui ciò avviene non è chiaro, ma in questo caso è necessario che nel colon sia presente una flora affinché il GOS abbia questo effetto, sebbene gli autori riconoscano che probabilmente esistono meccanismi mediati da microbi e non. Anche i frutto-oligosaccaridi (FOS) possono influenzare l'assorbimento dei minerali e, in studi sull'uomo, 15 g/die di oligofruuttosio o 40 g/die di inulina hanno mostrato un aumento dell'assorbimento apparente del calcio (Roberfroid M. , 2002); inoltre si è riscontrato un aumento dell'assorbimento di magnesio dopo l'ingestione di FOS (Bornet, Brouns, Tashiro, & Duvillier, 2002).

### **3.1.6. Regolazione dei lipidi**

Sebbene il meccanismo sia attualmente sconosciuto, i prebiotici possono avere un effetto anche sulla regolazione dei lipidi, dove vari studi hanno mostrato risultati positivi portando allo sviluppo di ipotesi meccanicistiche. Uno studio sui ratti diabetici ha rilevato che quando i carboidrati semplici sono stati sostituiti dagli xilo-oligosaccaridi (XOS) nella dieta, gli aumenti sierici di colesterolo e trigliceridi osservati nel diabete sono stati ridotti e i triacilgliceroli epatici sono aumentati fino ad arrivare a un livello paragonabile a quello osservato nei ratti sani (Imaizumi, Nakatsu, Sato, Sedarawanawati, & Sugano, 1991).

Altri studi hanno esaminato il FOS, dimostrando anche la capacità di ridurre i lipidi nel sangue (Bornet, Brouns, Tashiro, & Duvillier, 2002) (Roberfroid M. , Functional food concept and its application to prebiotics, 2002). Si pensa che ciò sia dovuto all'inibizione di un enzima lipogenico nel fegato, che potrebbe essere il risultato dell'azione del propionato prodotto dai batteri intestinali per mezzo della fermentazione dei prebiotici.

Sebbene i prebiotici possano essere utili per correggere l'iperlipidemia causata dal diabete e da altre condizioni, non sono state osservate diminuzioni dei lipidi in soggetti sani (Bornet, Brouns, Tashiro, & Duvillier, 2002), che è un'utile indicazione di sicurezza poiché l'uso improprio o il sovradosaggio non sembrano avere effetti negativi.

Ci sono molti meccanismi possibili attraverso i quali i prebiotici possono causare una diminuzione del colesterolo, come ad esempio:

- Aumento della viscosità nel tratto intestinale superiore. Questa viscosità può fungere da barriera fisica e diminuire il (ri)assorbimento dei grassi, compresi il colesterolo e gli acidi biliari. Ciò porterebbe ad un aumento della produzione fecale di colesterolo e acidi biliari, comporterebbe un maggiore catabolismo del colesterolo nel fegato, che porterebbe a concentrazioni plasmatiche di colesterolo più basse (Vanhoof & De Schrijver, 1995).
- pH cecale ridotto, come osservato nei ratti che consumavano inulina (Vanhoof & De Schrijver, 1995). A pH basso, la quantità di acidi biliari solubili diminuisce e, di conseguenza, diminuisce l'assorbimento dei lipidi e aumenta l'escrezione di acidi biliari fecali.
- Alterazione sintesi epatica del triacilglicerolo. L'azione ipolipemizzante dell'inulina è probabilmente dovuta ai cambiamenti nella sintesi epatica del triacilglicerolo, alla secrezione di colesterolo lipoproteico a densità molto bassa (VLDL-C) e al ridotto riassorbimento degli acidi biliari circolanti (Trautwein, Rieckhoff, & Erbersdobler, 1998). Pertanto, una maggiore escrezione di acidi biliari porta a un maggiore utilizzo del colesterolo epatico per ri-sintetizzare gli acidi biliari e, poiché i pool epatici di colesterolo libero diminuiscono per raggiungere un nuovo stato stazionario, la sintesi del colesterolo endogeno aumenterà. Ciò porta ad un aumento delle attività della 7- $\alpha$ -idrossilasi e della 3-idrossi-3-metilglutaril-coenzima A reduttasi (HMG-CoA reduttasi) per compensare la perdita di acidi biliari e colesterolo dalle riserve epatiche. Inoltre, i recettori epatici del colesterolo lipoproteico a bassa densità (LDL-C) vengono sovra regolati per ripristinare le riserve di colesterolo epatico, il che porterà a una diminuzione delle concentrazioni sieriche di colesterolo (LDL-C) (Ellegard, Andersson, & Bosaeus, 1997) (Theuwissen & Mensink, 2007).
- Fermentazione dei prebiotici. L'effetto ipocolesterolemico dei prebiotici deriva da un effetto metabolico (Levrat, et al., 1994), poiché questi composti vengono fermentati nel tratto intestinale inferiore (Adam, et al., 2001). Gli oligosaccaridi sono rapidamente e completamente fermentati (Gibson G. , 1999); questo aumenta la sintesi di sottoprodotti della fermentazione come il propionato, che raggiunge il fegato dalla vena porta e



inibisce le vie del colesterolo mediante l'inibizione dell'HMG-CoA reduttasi (Levrat, et al., 1994), simile al meccanismo d'azione delle statine.

- Insulina e glucosio sierici ridotti. L'oligofruztosio e l'inulina determinano una riduzione della sintesi degli acidi grassi epatici e del triacilglicerolo attraverso una riduzione coordinata dell'attività di tutti gli enzimi lipogenici. Kok, Roberfroid, Robert e Delzenne (1996) hanno concluso che l'effetto di riduzione del triacilglicerolo dell'oligofruztosio osservato nei ratti era causato dalla sua azione antilipogenica nel fegato, cioè riducendo l'attività e possibilmente l'espressione di tutti gli enzimi lipogenici, perché l'assunzione di prebiotici riduce significativamente l'insulina e il glucosio sierici (Kok, Roberfroid, Robert, & Delzenne, 1996), che inducono enzimi lipogenici (Delzenne & Kok, 1999).
- L'espressione del recettore LDL-C potrebbe contribuire all'aumento del colesterolo totale sierico che si verifica nei ratti che ricevono amido resistente estratto dai fagioli nella loro dieta per quattro settimane (Fukushima, et al., 2001). Inoltre, diversi studi hanno riportato una diminuzione del colesterolo totale nel siero dopo l'integrazione alimentare con prebiotici in vivo (Fava, Lovegrove, Gitau, Jackson, & Tuohy, 2006) (Mortensen, Poulsen, & Frandsen, 2002).

### **3.1.7. Riduzione della stitichezza**

La stitichezza è uno dei disturbi gastrointestinali più comuni e può colpire individui di tutte le età. Di solito è caratterizzata da movimenti intestinali irregolari e feci dure o grumose che diventano difficili da evacuare (Leser, Gottlieb, & Johansen, 2015).

I fattori responsabili di questo disturbo sono numerosi ed includono la scarsa assunzione di acqua e fibre, lo stress, la mancanza di attività fisica, lo squilibrio ormonale e il consumo di antidepressivi (Ahmad & Khalid, 2018). Per molto tempo, i prebiotici sono stati utilizzati in modo prominente per il trattamento della stitichezza mediante la generazione di SCFA che rendono il colon acido, portando così ad un ridotto assorbimento di ammoniaca nella mucosa. Questo grande volume di ammoniaca presente nel colon consente l'attivazione della peristalsi del colon e il trasferimento di acqua all'intestino inferiore, aumentando il contenuto di acqua e la massa delle feci (Chu, et al., 2019) (Macfarlane, 2009). Di conseguenza, il tempo di transito del cibo digerito viene ridotto e viene aumentata la motilità intestinale, il che aiuta nel trattamento della stitichezza. È noto che i prebiotici tra cui lattulosio, lattitolo, GOS e inulina, ecc. svolgono un ruolo significativo nell'alleviare i sintomi della stitichezza e sono quindi noti anche come lassativi. Uno studio clinico randomizzato ha studiato

l'effetto dei prebiotici (costituiti da inulina, lattitolo e gel di aloe vera) negli adulti (con frequenza delle feci massima tre volte a settimana) e si è potuto osservare un aumento dei batteri produttori di butirrato fecale, *Roseburia hominis*, e il miglioramento della frequenza delle feci. Inoltre, la concentrazione del lipopolisaccaride endotossico batterico è stata significativamente ridotta, il che aiuta a regolare la motilità intestinale (Chu, et al., 2019).

**Table 11.4** Applications of prebiotics for the treatment of various diseases.

Health benefit	Type of prebiotic	Experimental model	Outcomes of the study	Reference
	Combination of GOS and FOS	Suckling rat rotavirus infection model	Increased levels of SCFAs, decreased incidence of stools, improved stool consistency, significant reduction in viral shredding, improved immune system, reduced effects of rotavirus-induced gastroenteritis	Rigo-Adrover <i>et al.</i> (2017)
	GOS	Double-blind, controlled trial, formula-fed infants	Increased population of <i>Bifidobacterium</i> , improved immune system of host due to interaction of immune cells and host epithelium with colonic microbiota, reduced risk of infections	Nomayo <i>et al.</i> (2020)
Acute gastroenteritis	GOS	Randomized controlled trials	Increased stool frequency, improved stool consistency, ease of defecation and relief from abdominal pain and constipation	Yu <i>et al.</i> (2017)
Constipation	Inulin and lactitol	Randomized, double blinded, placebo-controlled clinical study	Reduced concentration of lipopolysaccharide, increased population of butyrate-producing bacteria ( <i>Roseburia hominis</i> ), reduced population of harmful bacteria ( <i>Firmicutes</i> and <i>Clostridium</i> ), improved frequency and consistency of stool	Chu <i>et al.</i> (2019)
	Lotus seed oligosaccharide	Mouse model	Decrease in appetite, reduced body weight gain, improved fecal water content, high SCFA production, improved intestinal peristalsis due to reduced time of defecation	Su <i>et al.</i> (2019)
Anticancer activity	GOS and inulin	Wistar rats	Increased levels of cecum and fecal SCFAs in rats, reduced levels of ammonia, inhibition of aberrant crypt foci (ACF) formation, reduced concentration of tumor-promoting enzymes ( $\beta$ -glucosidase, azoreductase, nitroreductase, etc.)	Qamar <i>et al.</i> (2016)
	GOS derived from lactulose	Fischer 344 rats	Increase in cecum weight, modulation of gut microbiota, increased level of SCFAs, reduction in gut pro-inflammatory bacteria <i>Desulfovibrio</i> , significant reduction in tumor number and area, high anti-inflammatory properties	Fernández <i>et al.</i> (2018)
	FOS, resistant dextrin, XOS, and polydextrose	Randomized, double-blind, no treatment parallel control human clinical trial	Increased levels of IgM and IgG preoperatively, postoperative increased levels of IgG, IgA, total B lymphocytes and cytotoxic T cells. Modulation of gut microbiota by increased population of <i>Bifidobacterium</i> and reduced levels of <i>Bacteroides</i>	Xie <i>et al.</i> (2019)
Anti-obesity activity	Inulin	Double-blind, randomized, placebo-controlled human design	Increased fat oxidation, lower postprandial plasma free fatty acid concentrations, increased production of SCFAs, improvement in human metabolism	van der Beek <i>et al.</i> (2017)
	Inulin and GOS	in vitro	Increased population of <i>Bifidobacterium</i> and <i>Faecalibacterium</i> , increased levels of SCFAs, lower production rates of gas in fecal cultures, improved antioxidant property, and decreased inflammation	Nogacka <i>et al.</i> (2020)
	Polyphenols	Diet-induced obese mice	Improved glucose tolerance, insulin sensitivity, normal cholesterol, improved ratio of <i>Firmicutes/Bacteroidetes</i> , improved lipid metabolism, reduced expression of pro-inflammatory mediators and increased expression of mucin involved in maintenance of mucosal barrier	Diez-Echave <i>et al.</i> (2020)
Diabetes	Oligofructose-enriched inulin	Double-blinded, placebo-controlled design	Increase in anti-inflammatory cytokine IL-4, reduction in concentration of inflammatory cytokine IL-12 and IFN- $\gamma$ , improved immune system, improved serum lipid and blood pressure profile	Dehghan <i>et al.</i> (2016)
	Raffinose	in vitro	Upregulation of IR $\beta$ /PI3K in adipocytes and skeletal muscle cells, increased glucose uptake, enhancement of autophosphorylation of Tyr-IR $\beta$ in insulin-resistant cells, upregulation of glycogen synthesis	Muthukumar <i>et al.</i> (2018)
	Polysaccharides from acorn and sago	Mice	Increased levels of SCFAs, reduced expression of inflammatory genes such as IF-6, TNF- $\alpha$ and MCP-1, decreased insulin sensitivity and glucose intolerance	Ahmadi <i>et al.</i> (2019)
Enhanced mineral absorption	GOS	Sprague Dawley rats	Modulation of gut microbiota, increased absorption of calcium, magnesium, and iron	Maawia <i>et al.</i> (2016)
Lipid metabolism	$\beta$ -Glucan	Randomized, double-blind, controlled, crossover design	Increased abundance of <i>Bifidobacterium</i> , reduced levels of plasma total cholesterol (TC) and low density lipopolysaccharide (LDL), improved bile acid and cholesterol binding ability	Connolly <i>et al.</i> (2016)
	Dietary fiber	High fat diet fed Wistar rats	Increased population of <i>Bifidobacterium</i> , increased SCFA levels, increased mucosal cell proliferation, inhibition of hepatic total lipids and triglyceride accumulation, rise in high density lipopolysaccharide (HDL) levels	Mateos-Aparicio <i>et al.</i> (2020)

FOS, fructooligosaccharides; GOS, galactooligosaccharides; IF, interferon; Ig, immunoglobulin; IL, interleukin; IR, insulin receptor; MCP-1, monocyte chemoattractant protein; PI3K, phosphatidylinositol-3 kinase; SCFAs, short chain fatty acids; TNF, tumor necrosis factor; XOS, xylooligosaccharides.

Source: D. Panwar, P.S. Panesar and A. Saini (2022). Probiotics, Prebiotics and Synbiotics: Technological Advancements Towards Safety and Industrial Applications. *Prebiotics and their Role in Functional Food Product Development*, 233-271

### **3.2. Prebiotici e il sistema nervoso**

Il tratto gastrointestinale e il sistema nervoso sono collegati tramite l'asse intestino-cervello (Gaman & Kuo, 2008), anche se gli effetti regolatori dei prebiotici sul cervello umano non sono stati ancora completamente definiti. Il microbiota intestinale influenza il cervello attraverso tre vie, comprese le vie neurali, endocrine e immunitarie (Gaman & Kuo, 2008) (Grenham, Clarke, Cryan, & Dinan, 2011) (Liu, Cao, & Zhang, 2015).

- Via neurale: i prodotti della fermentazione dei prebiotici possono influenzare il cervello dal nervo vago (Forsythe, Bienenstock, & Kunze, 2014). Alcuni prebiotici, come FOS e GOS, hanno effetti regolatori su fattori neurotrofici derivati dal cervello, neurotrasmettitori (ad esempio d-serina) e proteine sinaptiche (ad esempio sinaptofisina e N-metil-D-aspartato o subunità del recettore NMDA) (Savignac, et al., 2013) (Williams, et al., 2016).
- Via endocrina: l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene è una via neuroendocrina. Nei topi, la crescita del microbioma può indurre in un modo inappropriato il corticosterone e l'ormone adrenocorticotropo (Sudo, et al., 2004). Inoltre, i prebiotici agiscono come regolatori di altri ormoni, come il peptide plasmatico YY (Savignac, et al., 2013).
- Via immunitaria: i prebiotici sono in grado di influenzare diversi aspetti del sistema immunitario; per questo, oltre alle funzioni neurologiche, i prebiotici sono anche in grado di influenzare l'umore, la memoria, l'apprendimento e alcuni disturbi psichiatrici modificando l'attività e/o la composizione del microbiota intestinale (Liu, Cao, & Zhang, 2015) ([Tabella 3](#)).

#### **3.2.1. Autismo**

Il 70% di persone con autismo soffre di disturbi gastrointestinali concomitanti rispetto al 9% degli individui sani. Costipazione cronica (e altre malattie dovute alla stitichezza), dolore addominale con o senza diarrea, malattia da reflusso gastroesofageo, gonfiore addominale, carenze di disaccaridi, infiammazione del tratto gastrointestinale e anomalie del sistema nervoso enterico sono esempi di sintomi e segni gastrointestinali riportati per pazienti con disturbi dello spettro autistico (Buie, et al., 2010). È stato dimostrato che la gravità dell'autismo è correlata a disturbi gastrointestinali superiori (Adams, Johansen, Powell, Quig, & Rubin, 2011). È interessante notare che un articolo di revisione pubblicato nel 2016 ha confermato queste affermazioni (Navarro, Liu, & Rhoads, 2016). La composizione del microbiota intestinale è modificata nei pazienti con disturbi dell'autismo. Alcuni studi hanno mostrato livelli elevati di Clostridium e Bifidobacterium impoverito nelle feci. Nei

bambini con autismo, i metaboliti intestinali sono diversi dagli individui sani; ad esempio, la quantità di SCFA nei bambini con autismo è inferiore a quella di quelli sani (Adams, Johansen, Powell, Quig, & Rubin, 2011) (De Angelis, et al., 2013). Vari prebiotici, come la fibra di grano, possono avere effetti terapeutici sui pazienti con autismo diminuendo la popolazione di *Clostridium perfringens* e aumentando il tasso di bifidobatteri (Lefranc-Millot, et al., 2012). Le catecolamine, che sono una categoria di neurotrasmettitori, sono aumentate negli individui con autismo. Questi neurotrasmettitori sono prodotti dalla tirosina idrossilasi. Uno studio in vitro su una linea cellulare di midollo surrenale di ratto ha dimostrato che gli SCFA, i prodotti della fermentazione prebiotica, potrebbero indurre l'espressione della tirosina idrossilasi (Nankova, Agarwal, MacFabe, & La Gamma, 2014). Tuttavia, sono necessarie ulteriori indagini per capire quali prebiotici hanno effetti terapeutici sull'autismo umano.

### **3.2.2. Encefalopatia epatica**

L'encefalopatia epatica si verifica quando il fegato non funziona correttamente. Il motivo principale dell'encefalopatia epatica è l'aumento del livello di ammoniaca nel sangue. Questa condizione causa numerose complicazioni psichiatriche e neurologiche, inclusi disturbi della personalità, del linguaggio e del movimento, nonché disturbi cognitivi, e può eventualmente portare al coma e alla morte. Nel 1966, è stato dimostrato che il lattulosio potrebbe trattare efficacemente l'encefalopatia epatica diminuendo il livello di ammoniaca nell'intestino. Il lattulosio può migliorare la qualità della vita delle persone che soffrono di encefalopatia epatica. Questo prebiotico, quindi, ha anche effetti preventivi sull'encefalopatia epatica (Mudd, et al., 2016) (Müller, Guggenheim, & Haemmerli, 1966) (Prasad, et al., 2007) (Shukla, Shukla, Mehboob, & Guha, 2011). Il lattulosio esercita i suoi effetti benefici sull'encefalopatia epatica attraverso diverse vie. In primo luogo, il prodotto della fermentazione del lattulosio è l'acido lattico, che è in grado di ridurre il pH del lume del colon rilasciando H<sup>+</sup>. L'ammoniaca nell'intestino reagisce con il protone e produce ammonio. Questa conservazione sviluppa un gradiente di concentrazione che aumenta la quantità di ricaptazione dell'ammoniaca dal sangue nel tratto gastrointestinale (Elkington, Floch, & Conn, 1969). In secondo luogo, in presenza di lattulosio nel tratto gastrointestinale, i batteri utilizzano l'energia della fermentazione del lattulosio invece della conversione degli amminoacidi in energia di ammoniaca. Terzo, il lattulosio può inibire la glutaminasi e prevenire la produzione di ammoniaca della glutammina (Mudd, et al., 2016). Infine, il lattulosio riduce il tempo di transito del colon. Pertanto, può ridurre il livello di ammoniaca nel tratto gastrointestinale. Anche altri composti, come il

lattitolo, possono essere efficaci quanto il lattulosio nel trattamento dell'encefalopatia epatica. È interessante notare che gli effetti collaterali del lattitolo sono molto inferiori rispetto al lattulosio (ad es. flatulenza e nausea) (Blanc, et al., 1992) (Cammà, et al., 1993) (Weber, 1996).

Table 3. Studies showing the effect of prebiotics on the nervous system.

Prebiotic	Dose	Subjects	Main Results	Reference
Non-starch polysaccharides (NSPs)	4 g of NSPs (Ambrotose®)	Middle-aged healthy adults	Recognition and working memory performance improved.	[153]
	3.6 g/day for 12 weeks	Middle-aged healthy adults	Cognitive function and well-being optimized.	[154]
Mixture of FOS, GOS, and AOS	Supplementation between day 3 and 30 of life, and the results measured during 24 months	Preterm infants	Neurodevelopment did not improve significantly.	[157]
	5 g, the results measured after 4 h	19-30 years old healthy individuals	Mood, recognition, immediate memory, and recall enhanced.	[158]
Inulin-enriched oligofructose	10 g/day of Synergy® 1, the results measured after 43 days	19-64 years old healthy individuals	Long-term memory did not change significantly.	[159]
	2.4 and 7 g/L of polydextrose and GOS	Male piglets	They may have neurodevelopment effect in human infants.	[143]
Mixture of GOS and polydextrose	7 g/kg prebiotics mixture	Rats	Memory and social behaviors improved, and anxiety-like behaviors reduced.	[160]
	15 g/kg prebiotics mixture	Mice	Arabinosyl, β-glucan, and arabinose had preserved cognition effects against vascular dementia.	[155]
Water extract of <i>Triticum aestivum</i> composed of arabinosyl, β-glucan, and arabinose	-	Rats	Salivary cortisol awakening response was decreased, attentional vigilance to negative versus positive information reduced, and the concentration improved.	[156]
	5.5 g/day for 3 weeks	18-45 years old healthy volunteers	Lactulose appeared to have neurodevelopment effect in human infants.	[143]
Lactulose	Lactoferrin (0.6 g/L) and Milk fat globule membrane (MFGM) (5.0 g/L)	Male piglets	Blood ammonia levels decreased.	[168]
	Duphalac® 90-150 mL/d	Patients with chronic portal-systemic encephalopathy (PSE)	Cognitive function and health-related quality of life improved.	[169]
	30-60 mL of lactulose in 2 or 3 divided doses for 3 months	Patients with cirrhosis	Lactulose had the most beneficial influence among prebiotics and probiotics.	[170]
	Meta-analysis	Patients with subclinical hepatic encephalopathy	The lower intestinal tract was acidified, and lactulose had a beneficial effect on chronic PSE.	[171]

NSPs: non-starch polysaccharides; FOS: Fructo-oligosaccharides; GOS: Galacto-oligosaccharides; and AOS: acidic oligosaccharides.

Source: D. Davani-Davari, M. Negahdaripour, I. Karimzadeh, M. Seifan, M. Mohkam, S. J. Masoumi, A. Berenjian and Y. Ghasem (2019). Prebiotics: Definition, Types, Sources, Mechanisms, and Clinical Applications.

#### **4. ASPETTI DI SICUREZZA DEI PREBIOTICI**

Attualmente, grazie alla loro vasta gamma di benefici per la salute unita alle numerose applicazioni alimentari, i prebiotici sono considerati tra gli ingredienti maggiormente utilizzati e consumati. Una delle applicazioni emergenti dei prebiotici è nel settore della tecnologia alimentare dove vengono utilizzati come integratori per lo sviluppo di alimenti funzionali al fine di mantenere la salute intestinale (Wang, 2009). Pertanto, è diventato importante comprendere la natura, il ruolo e gli aspetti di sicurezza dei prebiotici nel corpo umano (Ashwini, et al., 2019).

Sono stati condotti numerosi studi in vivo e in vitro sui prebiotici e ad oggi non sono stati segnalati effetti collaterali gravi in seguito al consumo dei prebiotici (Guarino, et al., 2020).

In generale, prebiotici quali GOS, FOS e inulina hanno già ottenuto lo stato di General Recognized as Safe (GRAS) e vengono ampiamente impiegati come integratori nei prodotti alimentari (Biswal, Pal, & Das, 2017). Tuttavia, è necessario stabilire quale sia la conoscenza dei consumatori nei confronti della selezione di una particolare fonte prebiotica e del loro livello di dosaggio sicuro per il consumo (Ashwini, et al., 2019). Un altro punto importante da tenere in considerazione per la valutazione della sicurezza dei prebiotici include l'effetto degli attributi intrinseci dei prebiotici sull'ecologia della microflora intestinale (Hammes & Hertel, 2002). I prebiotici non dovrebbero alterare negativamente la composizione della microflora intestinale poiché ciò potrebbe portare a determinati effetti sfavorevoli sulla salute. Ad esempio, una maggiore produzione di butirrato da parte della microflora intestinale supporta la crescita di batteri patogeni, *Clostridium* spp. Pertanto, è necessario selezionare tramite la ricerca il prebiotico più convincente con l'obiettivo di impedire alla microflora intestinale di produrre effetti negativi sull'ospite (Wang, 2009).

Un altro criterio importante per un prebiotico è che dovrebbe mantenersi stabile ad un'ampia gamma di parametri di lavorazione degli alimenti, tra cui pH e temperatura, non deve contenere impurità, non deve essere tossico e non deve alterare le caratteristiche sensoriali del prodotto alimentare (Biswal et al., 2017). Pertanto, sono necessari ulteriori studi citotossici, mutageni, farmacocinetici e farmacologici per poter valutare le informazioni tossicologiche sui prebiotici.

## **5. CONCLUSIONI**

I prebiotici esercitano una notevole influenza sulla salute umana, il che li rende allettanti per migliorare la qualità della vita umana nei confronti di cancro, malattie vascolari, obesità e disturbi mentali. Ci sono molti studi sugli effetti positivi dei prebiotici sulla salute umana ma, per confermare le affermazioni sulla salute è necessario pianificare accuratamente studi clinici a lungo termine e indagini genomiche.

Andando a determinare i meccanismi fondamentali dei prebiotici, gli scienziati sarebbero in grado di formulare integratori alimentari potenziati per migliorare la salute umana. La capacità di normalizzare la composizione del microbiota intestinale tramite sostanze dietetiche prebiotiche è un metodo interessante per il controllo e per la guarigione di alcuni dei principali disturbi. In altre parole, il microbiota intestinale, in quanto organo principale del corpo, può essere nutrito correttamente con i prebiotici in maniera tale da diventare più sano e forte, il che, a sua volta, può avere un impatto significativo sulla salute generale.

Pertanto, la progettazione di particolari prebiotici specifici per la popolazione in relazione al microbiota intestinale residente specifico di ciascuna comunità può in definitiva contribuire alla riduzione di determinati disturbi in ciascuna società come approccio standardizzato.



## BIBLIOGRAFIA

- Aachary, A., & Prapulla, S. (2011). Xylooligosaccharides (XOS) as an emerging prebiotic: microbial synthesis, utilization, structural characterization, bioactive properties, and applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10(1), 2-16.
- Adam, A., Levrat-Verny, M. A., Lopez, H. W., Leuillet, M., Demigné, C., & Rémésy, C. (2001). Whole wheat and triticale flours with differing viscosities stimulate cecal fermentations and lower plasma and hepatic lipids in rats. *Journal of Nutrition*, 131, 1770-1776.
- Adams, J., Johansen, L., Powell, L., Quig, D., & Rubin, R. (2011). Gastrointestinal flora and gastrointestinal status in children with autism—comparisons to typical children and correlation with autism severity. *BMC Gastroenterology*, 11, 22.
- Ahmad, A., & Khalid, S. (2018). Therapeutic aspects of probiotics and prebiotics. In *Diet, Microbiome and Health* (eds A.M. Holban and A.M. Grumezescu ed., Vol. 11). Academic Press.
- Ahmadi, S., Nagpal, R., Wang, S., Gagliano, J., Kitzman, D., Soleimanian-Zad, S., . . . Yadav, H. (2019). Prebiotics from acorn and sago prevent high-fat-diet-induced insulin resistance via microbiome–gut–brain axis modulation. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 67, 1-13.
- Ahmed, W., & Rashid, S. (2019). Functional and therapeutic potential of inulin: A comprehensive review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(1), 1-13.
- Aït-Aïssa, A., & Aïder, M. (2014). Lactulose: production and use in functional food, medical and pharmaceutical applications. Practical and critical review. *International Journal of Food Science & Technology*, 49(5), 1245-1253.
- Alander, M., Mättö, J., Kneifel, W., Johansson, M., Kögler, B., Crittenden, R., . . . Saarela, M. (2001). Effect of galacto-oligosaccharide supplementation on human faecal microflora and on survival and persistence of *Bifidobacterium lactis* Bb-12 in the gastrointestinal tract. *International Dairy Journal*, 11(10), 817-825.
- Al-Sheraji, S., Ismail, A., Manap, M., Mustafa, S., Yusof, R., & Hassan, F. (2013). Prebiotics as functional foods: A review. *Journal of Functional Foods*, 5(4), 1542-1553.
- Amorim, C., Silvério, S., Cardoso, B., Alves, J., Pereira, M., & Rodrigues, L. (2020). In vitro assessment of prebiotic properties of xylooligosaccharides produced by *Bacillus subtilis* 3610. *Carbohydrate Polymers*, 229, 115460.
- Amorim, C., Silvério, S., Prather, K., & Rodrigues, L. (2019). From lignocellulosic residues to market: production and commercial potential of xylooligosaccharides. *Biotechnology Advances*, 37(7), 107397.
- Anadón, A., Martínez-Larrañaga, M., Arés, I., & Martínez, M. (2016). Prebiotics and probiotics: An assessment of their safety and health benefits. *Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics: Bioactive Foods in Health Promotion*, 1, 3.
- Arvanitoyannis, I., & Van Houwelingen-Koukaliaroglou, M. (2005). Functional foods: a survey of health claims, pros and cons, and current legislation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(5), 385-404.
- Aryana, K. J., Plauche, S., Rao, R. M., McGrew, P., & Shah, N. P. (2007). Fat-free plain yoghurt manufactured with inulins of various chain lengths and *Lactobacillus acidophilus*. *Journal of Food Science*, 72, M79-M84.

- Ashaolu, T. (2019). A review on selection of fermentative microorganisms for functional foods and beverages: the production and future perspectives. *International Journal of Food Science & Technology*, 54(8), 2511-2519.
- Ashaolu, T. (2020). Antioxidative peptides derived from plants for human nutrition: their production, mechanisms and applications. *European Food Research and Technology*, 1-13.
- Ashwini, A., Ramya, H., Ramkumar, C., Reddy, K., Kulkarni, R., Abinaya, V., . . . Raghu, A. (2019). Reactive mechanism and the applications of bioactive prebiotics for human health. *Journal of Microbiological Methods*, 159, 128-137.
- Bali, V., Panesar, P., Bera, M., & Panesar, R. (2015). Fructo-oligosaccharides: production, purification and potential applications. *Critical Review in Food Science and Nutrition*, 55(11), 1475-1490.
- Bhatia, S., Prabhu, P., Benefiel, A., Miller, M., Chow, J., Davis, S., & Gaskins, H. (2015). Galacto-oligosaccharides may directly enhance intestinal barrier function through the modulation of goblet cells. *Molecular Nutrition & Food Research*, 59(3), 566-573.
- Bindels, L., Delzenne, N., Cani, P., & Walter, J. (2015). Towards a more comprehensive concept for prebiotics. *Nature Review Gastroenterology & Hepatology*, 12(5), 303.
- Bindels, L., Delzenne, N., Cani, P., & Walter, J. (2015). Towards a more comprehensive concept for prebiotics. *Nature Review Gastroenterology & Hepatology*, 12, 303-310.
- Biswal, P., Pal, A., & Das, A. (2017). Current trends and future prospective of prebiotics as therapeutic food. In *Microbial Production of Food Ingredients and Additives* (Vol. 5 (eds A.M. Holban and A.M. Grumezescu)). Academic Press.
- Blanc, P., Daures, J., Rouillon, J., Peray, P., Pierrugues, R., Larrey, D., . . . Michel, H. (1992). Lactitol or lactulose in the treatment of chronic hepatic encephalopathy: Results of a meta-analysis. *Hepatology*, 15, 222-228.
- Bornet, F., Brouns, F., Tashiro, Y., & Duvillier, V. (2002). Nutritional aspects of short-chain fructooligosaccharides: natural occurrence, chemistry, physiology and health implications. *Digestive and Liver Disease*, 34, S11-S120.
- Boscher, D. (2009). Fructan prebiotics derived from inulin. *Prebiotics and Probiotics Science and Technology*, 1, 163-206.
- Buie, T., Campbell, D., Fuchs, G., Furuta, G., Levy, J., VandeWater, J., . . . al., e. (2010). Evaluation, diagnosis, and treatment of gastrointestinal disorders in individuals with asds: A consensus report. *Pediatrics*, 125, S1-S8.
- Cammà, C., Fiorello, F., Tinè, F., Marchesini, G., Fabbri, A., & Pagliaro, L. (1993). Lactitol in treatment of chronic hepatic encephalopathy. *Digestive Diseases and Sciences*, 38, 916-922.
- Candela, M., Maccaferri, S., Turrone, S., Carnevali, P., & Brigidi, P. (2010). Functional intestinal microbiome, new frontiers in prebiotic design. *International Journal of Food Microbiology*, 140(2-3), 93-101.
- Carvalho, A., de Oliva Neto, P., Da Silva, D., & Pastore, G. (2013). Xylo-oligosaccharides from lignocellulosic materials: chemical structure, health benefits and production by chemical and enzymatic hydrolysis. *Food Research International*, 51(1), 75-85.
- Casci, T., & Rastall, R. (2006). Manufacture of prebiotic oligosaccharides. *Prebiotics: Development and Application*, 29-55.

- Charoensiddhi, S., Conlon, M., Methacanon, P., Franco, C., Su, P., & Zhang, W. (2017). Gut health benefits of brown seaweed *Ecklonia radiata* and its polysaccharides demonstrated in vivo in a rat model. *Journal of Functional Foods*, *37*, 676-684.
- Chen, H., Lu, Y., Lin, J., & Ko, L. (2001). Effects of isomalto-oligosaccharides on bowel functions and indicators of nutritional status in constipated elderly men. *Journal of the American College of Nutrition*, *20*(1), 44-49.
- Chonan, O., Takahashi, R., & Watanuki, M. (2001). Role and activity of gastrointestinal microflora in absorption of calcium and magnesium in rats fed b1–4 linked galactooligosaccharides. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, *65*, 1872-1875.
- Chu, J., Kang, S., Kim, S., Lee, S., Lee, Y., & Sung, M. (2019). Prebiotic UG1601 mitigates constipation-related events in association with gut microbiota: A randomized placebo-controlled intervention study. *World Journal of Gastroenterology*, *25*(40), 6129.
- Coelho, E., Rocha, M., Moreira, A., Domingues, M., & Coimbra, M. (2016). Revisiting the structural features of arabinoxylans from brewers' spent grain. *Carbohydrate Polymers*, *139*, 167-176.
- Collins, S., & Reid, G. (2016). Distant site effects of ingested prebiotics. *Nutrients*, *8*(9), 523.
- Conlon, M., & Bird, A. (2015). The impact of diet and lifestyle on gut microbiota and human health. *Nutrients*, *7*(1), 17-44.
- Connolly, M. L., Lovegrove, J. A., & Tuohy, K. M. (2010). Konjac glucomannan hydrolysate beneficially modulates bacterial composition and activity within the faecal microbiota. *Journal of Functional Foods*, *2*, 219-224.
- Corrêa-Oliveira, R., Fachi, J., Vieira, A., Sato, F., & Vinolo, M. (2016). Regulation of immune cell function by short-chain fatty acids. *Clinical & Translational Immunology*, *5*(4), e73.
- Crittenden, R. G. (s.d.).
- Crittenden, R. G., & Playne, M. J. (1996). Production, properties and applications of food-grade oligosaccharides. *Trends in Food Science and Technology*, *7*, 353-361.
- Cummings, J., Macfarlane, G., & Englyst, H. (2001). Prebiotic digestion and fermentation. *American Journal of Clinical Nutrition*, *73*, 415S-420S.
- Das, A., Nanda, P., Madane, P., Biswas, S., Das, A., Zhang, W., & Lorenzo, J. (2020). A comprehensive review on antioxidant dietary fibre enriched meat-based functional foods. *Trends in Food Science & Technology*, *99*, 323-326.
- De Angelis, M., Piccolo, M., Vannini, L., Siragusa, S., De Giacomo, A., Serrazanetti, D., . . . Francavilla, R. (2013). Fecal microbiota and metabolome of children with autism and pervasive developmental disorder not otherwise specified. *PLoS ONE*, *8*, e76993.
- de la Rosa, O., Flores-Gallegos, A., Muñiz-Marquez, D., Nobre, C., Contreras-Esquivel, J., & Aguilar, C. (2019). Fructiooligosaccharides production from agro-wastes as alternative low-cost source. *Trends in Food Science & Technology*, *91*, 139-146.
- de Paulo Farias, D., de Araújo, F., Neri-Numa, I., & Pastore, G. (2019). Prebiotics: trends in food, health and technological applications. *Trends in Food Science & Technology*, *93*, 23-35.
- de Preter, V., & Verbeke, K. (2014). *Functional aspects of prebiotics and the impact on human health* (1st edition (eds K. Venema and A.P. do Carmo) ed.). Norfolk, UK: Caister Academic Press.

- de Souza, V., Menezes, C., Cunha, L., Pereira, P., & Pinto, U. (2015). Prebiotics: Technological aspects and human health. In *Probiotics and Prebiotics: Current Research and Future Trends* (1st edition (eds K. Venema and A.P. do Carmo) ed.). Norfolk, UK: Caister Academic Press.
- Dehghan, P., Farhangi, M., Tavakoli, F., Aliasgarzadeh, A., & Akbari, A. (2016). Impact of prebiotic supplementation on T-cell subsets and their related cytokines, anthropometric features and blood pressure in patients with type 2 diabetes mellitus: a randomized placebocontrolled trial. *Complementary Therapies in Medicine*, *24*, 96-102.
- Delgado, G., & Tamashiro, W. (2018). Role of prebiotics in regulation of microbiota and prevention of obesity. *Food Research International*, *113*, 183-188.
- Dello Staffolo, M., Bertola, N., Martino, M., & Bevilacqua, A. (2004). Influence of dietary fibre addition on sensory and rheological properties of yoghurt. *International Dairy Journal*, *14*, 263-268.
- Delzenne, N. M., & Kok, N. N. (1999). Biochemical basis of oligofructose-induced hypolipidemia in animal models. *Journal of Nutrition*, *129*, 1467S-1470S.
- Diez-Echave, P., Vezza, T., Rodríguez-Nogales, A., Ruiz-Malagón, A., Hidalgo-García, L., Garrido-Mesa, J., . . . Borrás-Linares, I. (2020). The prebiotic properties of Hibiscus sabdariffa extract contribute to the beneficial effects in diet-induced obesity in mice. *Food Research International*, *127*, 108722.
- Duarte, L., da Natividade Schöffner, J., Lorenzoni, A., Rodrigues, R., Rodrigues, E., & Hertz, P. (2017). A new bioprocess for the production of prebiotic lactosucrose by an immobilized  $\beta$ -galactosidase. *Process Biochemistry*, *55*, 96-103.
- Duncan, B. (2013). Prebiotics, probiotics, and health promotion: An overview. In *Bioactive Food as Dietary Interventions for Liver and Gastrointestinal Disease: Bioactive Foods in Chronic Disease States* (1st edition (eds R. Watson and V. Preedy) ed.). Academic Press.
- Ejtahed, H., Angoorani, P., Soroush, A., Atlasi, R., Hasani-Ranjbar, S., Mortazavian, A., & Larijani, B. (2019). Probiotics supplementation for the obesity management; A systematic review of animal studies and clinical trials. *Journal of Functional Foods*, *52*, 228-242.
- Elkington, S., Floch, M., & Conn, H. (1969). Lactulose in the treatment of chronic portal-systemic encephalopathy: A double-blind clinical trial. *The New England Journal of Medicine*, *281*, 408-412.
- Ellegard, 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. *European Journal of Clinical Nutrition*, *51*, 1-5.
- Fava, F., Lovegrove, J. A., Gitau, R., Jackson, K. G., & Tuohy, K. M. (2006). The gut microbiota and lipid metabolism: Implications for human health and coronary heart disease. *Current Medical Chemistry*, *13*, 3005-3021.
- Fei, B., Ling, L., Hua, C., Ren, & S.Y. (2014). Effects of soybean oligosaccharides on antioxidant enzyme activities and insulin resistance in pregnant women with gestational diabetes mellitus. *Food Chemistry*, *158*, 429-432.
- Filteau, S., & Tomkins, A. (1994). Infant feeding and infectious disease. In *Infant nutrition* (A. F. Walker & B. A. Rolls (Eds.) ed., p. 143-162). London: Chapman and Hall.
- Fischer, C., & Kleinschmidt, T. (2018). Synthesis of galactooligosaccharides in milk and whey: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *3*, 678-697.

- Flores-Maltos, D., Mussatto, S., Contreras-Esquivel, J., Rodrioguez-Herrera, R., Teixeira, J., & Aguilar, C. (2016). Biotechnological production and application of fructooligosaccharides. *Critical Review in Biotechnology*, 36(2), 259-267.
- Forsythe, P., Bienenstock, J., & Kunze, W. (2014). Vagal pathways for microbiome-brain-gut axis communication. In *Microbial Endocrinology: The Microbiota-Gut-Brain Axis in Health and Disease* (p. 115-133). New York, NY, USA: Springer.
- Franck, A. (2002). Technological functionality of inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition*, 87, S287-S291.
- Franck, A., & Coussement, P. (1997). Multi-functional inulin. *Food Ingredients and Analysis International*, 8-10.
- Freter, R., Brickner, H., Fekete, J., Vickerman, M. M., & Carey, K. E. (1983). Survival and implantation of *Escherichia coli* in the intestinal tract. *Infection & Immunity*, 39(2), 686-703.
- Freter, R., Stauffer, E., Cleven, D., Holdeman, L. V., & Moore, W. E. (1983). Continuous-flow cultures as in vitro models of the ecology of large intestinal flora. *Infection & Immunity*, 39(2), 666-675.
- Fujita, k., Ito, T., & Kishino, E. (2009). Characteristics and applications of lactosucrose. *Proceedings of the Research Society of Japan Sugar Refineries' Technologist*, 57, Research Society of Japan Sugar Refineries' Technologist: 13-21.
- Fukuda, S., Toh, H., Hase, K., Oshima, K., Nakanishi, Y., Yoshimura, K., & al., e. (2011). Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate. *Nature*, 69(7331), 543-547.
- Fukushima, M., Ohashi, T., Kojima, M., Ohba, K., Shimizu, H., Sonoyama, K., & Nakano, M. (2001). Low density lipoprotein receptor mRNA in rat liver is affected by resistant starch of beans. *Lipids*, 36, 129-134.
- Gaman, A., & Kuo, B. (2008). Neuromodulatory processes of the brain-gut axis. *Neuromodulation*, 11, 249-259.
- Gibson, G. (1999). Dietary modulation of the human gut microflora using the prebiotics oligofructose and inulin. *Journal of Nutrition*, 129, 1438S-1441S.
- Gibson, G. R., McCartney, A. L., & Rastall, R. A. (2005). Prebiotics and resistance to gastrointestinal infections. *British Journal of Nutrition*, 93(Suppl 1), S31-S34.
- Gibson, G., Beatty, E., Wang, X., & Cummings, J. (1995). Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *Gastroenterology*, 108, 975-982.
- Gibson, G., Hutkins, R., Sanders, M., Prescott, S., Reimer, R., Salminen, S., . . . Verbeke, K. (2017). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Review Gastroenterology & Hepatology*, 14(8), 491.
- Gibson, G., Probert, H., Van Loo, J., Rastall, R., & Roberfroid, M. (2004). Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews*, 17(2), 259-275.
- Gibson, G., Scott, K., Rastall, R., Tuohy, K., Hotchkiss, A., . . . al., e. (2010). Dietary prebiotics: Current status and new definition. *Food Science & Technology Bulletin Functional Foods*, 7, 1-19.

- Glenn, G., & Roberfroid, M. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr.*, *125*, 1401-1412.
- Gorbach, S. L., Barza, M., Giuliano, M., & Jacobus, N. V. (1988). Colonization resistance of the human intestinal microflora: testing the hypothesis in normal volunteers. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, *7*(1), 98-102.
- Goulas, A. K., Fisher, D. A., Grimble, G. K., Grandison, A. S., & Rastall, R. A. (2004). Synthesis of isomaltooligosaccharides and oligodextrans by the combined use of dextransucrase and dextranase. *Enzyme and Microbial Technology*, *35*, 327-338.
- Grajek, W., Olejnik, A., & Sip, A. (2005). Probiotics, prebiotics and antioxidants as functional foods. *Acta Biochimica Polonica*, *52*(3), 665-671.
- Green, M., Arora, K., & Prakash, S. (2020). Microbial medicine: prebiotic and probiotic functional foods to target obesity and metabolic syndrome. *International Journal of Food Science & Technology*, *21*(8), 2890.
- Grenham, S., Clarke, G., Cryan, J., & Dinan, T. (2011). Brain–gut–microbe communication in health and disease. *Frontiers in Physiology*, *2*, 94.
- Guarino, M., Altomare, A., Emerenziani, S., Di Rosa, C., Ribolsi, M., Balestrieri, P., . . . Cicala, M. (2020). Mechanisms of action of prebiotics and their effects on gastro-intestinal disorders in adults. *Nutrients*, *12*(4), 1037.
- Guimaraes, J., Balthazar, C., Silva, R., Rocha, R., Graça, J., Esmerino, E., & al., e. (2020). Impact of probiotics and prebiotics on food texture. *Current Opinion in Food Science*, *33*, 38-44.
- 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 lowfat yogurt manufacture. *International Journal of Dairy Technology*, *58*, 180-184.
- Hammes, W., & Hertel, C. (2002). Research approaches for pre-and probiotics: challenges and outlook. *Food Research International*, *35*(2-3), 165-170.
- Hidaka, H., Eida, T., Takizawa, T., Tokunaga, T., & Tashiro, Y. (1986). Effects of fructooligosaccharides on intestinal flora and human health. *Bifidobacteria Microflora*, *5*, 37-50.
- Holscher, H. (2017). Dietary fiber and prebiotics and the gastrointestinal microbiota. *Gut Microbes*, *8*(2), 172-184.
- Howlett, J., Betteridge, V., Champ, M., Craig, S., Meheust, A., & Jones, J. (2010). The definition of dietary fiber-discussions at the ninth vahouny fiber symposium: Building scientific agreement. *Food & Nutrition Research*, *54*, 5750.
- Hutkins, R., Krumbeck, J., Bindels, L., Cani, P., Fahey Jr, G., Goh, Y., . . . Vaughan, E. (2016). Prebiotics: why definitions matter. *Current Opinion in Biotechnology*, *37*, 1-7.
- Imaizumi, K., Nakatsu, Y., Sato, M., Sedaranawati, Y., & Sugano, M. (1991). Effects of xylooligosaccharides on blood glucose, serum and liver lipids and caecum short-chain fatty acids in diabetic rats. *Agriculture Biology and Biochemistry*, *55*, 199-205.
- Imbs, T., Ermakova, S., Malyarenko, O., Isakov, V., & Zvyagintseva, T. (2016). Structural elucidation of polysaccharide fractions from the brown alga *Coccoloba langsdorfii* and in vitro investigation of their anticancer activity. *Carbohydrate Polymers*, *135*, 162-168.

- Ito, M., Deguchi, Y., Miyamori, A., Matsumoto, K., Kikuchi, H., Matsumoto, K., . . . Kan, T. (1990). Effects of administration of galactooligosaccharides on the human faecal microflora, stool weight and abdominal sensation. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 3(6), 285-292.
- Joshi, D., Roy, S., & Banerjee, S. (2018). Prebiotics: a functional food in health and disease. In *Natural Products and Drug Discovery* (1st edition (eds S.C. Mandal, V. Mandal and T. Konishi) ed.). Elsevier.
- Kaur, R., & Panesar, P. (2020). Enzyme systems for high-value biomolecule production. In *In: Biomass, Biofuels, Biochemicals* (1st edition (eds A. Pandey; S.V. Mohan; J. Chang; P. Hallenbeck; C. Larroche ed.)). Elsevier.
- Kip, P., Meyer, D., & Jellema, R. H. (2006). Inulins improve sensoric and textural properties of low-fat yoghurts. *International Dairy Journal*, 16, 1098-1103.
- Klancic, T., & Reimer, R. (2020). Gut microbiota and obesity: Impact of antibiotics and prebiotics and potential for musculoskeletal health. *Journal of Sport and Health Science*, 9, 110-118.
- Kok, N., Roberfroid, M., Robert, A., & Delzenne, N. (1996). Involvement of lipogenesis in the lower VLDL secretion induced by oligofructose in rats. *British Journal of Nutrition*, 76, 881-890.
- Kolida, S., & Gibson, G. (2011). Synbiotics in Health and Disease. *Annual Review of Food Science and Technology*, 2, 373-393.
- Le, B., Ngoc, A., & Yang, S. (2020). Synbiotic fermented soymilk with *Weissella cibaria* FB069 and xylooligosaccharides prevents proliferation in human colon cancer cells. *Journal of Applied Microbiology*, 128(5), 1486-1496.
- Lefranc-Millot, C., Guérin-Deremaux, L., Wils, D., Neut, C., Miller, L., & Saniez-Degrave, M. (2012). Impact of a resistant dextrin on intestinal ecology: How altering the digestive ecosystem with nutriose®, a soluble fibre with prebiotic properties, may be beneficial for health. *Journal of International Medical Research*, 40, 211-224.
- Leser, T., Gottlieb, C., & Johansen, E. (2015). Bifidobacteria—regulators of intestinal homeostasis. In *Probiotics and Prebiotics: Current Research and Future Trends* (1st edition (eds K. Venema and A.P. do Carmo) ed.). Norfolk, UK: Caister Academic Press.
- Levrat, M. A., Favier, M. L., Moundras, C., Remesy, C., Demigne, C., & Morand, C. (1994). Role of dietary propionic acid and bile acid excretion in the hypocholesterolemic effects of oligosaccharides in rats. *Journal of Nutrition*, 124, 531-538.
- Leylabadlo, H., Sanaie, S., Heravi, F., Ahmadian, Z., & Ghotaslou, R. (2020). From role of gut microbiota to microbial-based therapies in type 2-diabetes. *Infection, Genetics and Evolution*, 81, 104268.
- Lin, S., Chou, L., Chien, Y., Chang, J., & Lin, C. (2016). Prebiotics effects of xylooligosaccharides on the improvement of microbiota balance in human subjects. *Gastroenterology Research and Practice*, 2016, 5789232.
- Liu, X., Cao, S., & Zhang, X. (2015). Modulation of gut microbiota–brain axis by probiotics, prebiotics, and diet. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 7885-7895.
- Lon, J., Yang, J., Henning, S., Woo, S., Hsu, M., Chan, B., . . . Li, Z. (2019). Xylooligosaccharide supplementation decreases visceral fat accumulation and modulates cecum microbiome in mice. *Journal of Functional Foods*, 52, 138-146.
- Ma, Y., Wu, X., Giovanni, V., & Meng, X. (2017). Effects of soybean oligosaccharides on intestinal microbial communities and immune modulation in mice. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(1), 114-121.

- Macfarlane, H. (2009). Mechanisms of prebiotic impact on health. In *Prebiotics and Probiotics Science and Technology* (eds D. Charalampopoulos and R.A. Rastall ed., Vol. 1). New York, NY: Springer.
- Manning, T. S., & Gibson, G. R. (2004). Prebiotics. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 18, 287-298.
- Mao, B., Li, D., Ai, C., Zhao, J., Zhang, H., & Chen, W. (2016). Lactulose differently modulates the composition of luminal and mucosal microbiota in C57BL/6J mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(31), 6240-6247.
- Markowiak, P., & Śliżewska, K. (2017). Effect of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. *Nutrients*, 9(9), 1021.
- Maroyi, A. (2019). Utilization of *Bridelia mollis* as herbal medicine, nutraceutical and functional food in southern Africa: a review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 18(1), 203-209.
- Martinez-Ferez, A., Rudloff, S., Guadix, A., Henkel, C., Pohlentz, G., Boza, J., . . . Kunz, C. (2006). Goats' milk as a natural source of lactose-derived oligosaccharides: Isolation by membrane technology. *International Dairy Journal*, 16(2), 173-181.
- Meyer, D., Bayarri, S., Tárrega, A., & Costell, E. (2011). Inulin as texture modifier in dairy products. *Food Hydrocolloids*, 25(8), 1881-1890.
- Miremadi, F., & Shah, N. (2012). Applications of inulin and probiotics in health and nutrition. *International Food Research Journal*, 19, 1337-1350.
- Mohanty, D., Misra, S., Mohapatra, S., & Sahu, P. (2018). Prebiotics and synbiotics: Recent concepts in nutrition. *Food Bioscience*, 26, 152-160.
- Molis, C., Lourie, B., & Ouarne, F. (1996). Digestion, excretion, and energy value of fructooligosaccharides in healthy humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, 64, 324-328.
- Mortensen, A., Poulsen, M., & Frandsen, H. (2002). Effect of a longchained fructan Raftiline HP on blood lipids and spontaneous atherosclerosis in low density receptor knockout mice. *Nutrition Research*, 22, 473-480.
- Mu, W., Chen, Q., Wang, X., Zhang, T., & Jiang, B. (2013). Current studies on physiological functions and biological production of lactosucrose. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 16, 7073-7080.
- Mudd, A., Alexander, L., Berding, K., Waworuntu, R., Berg, B., Donovan, S., & Dilger, R. (2016). Dietary prebiotics, milk fat globule membrane, and lactoferrin affects structural neurodevelopment in the young piglet. *Frontiers in Pediatrics*, 4, 4.
- Müller, J., Guggenheim, P., & Haemmerli, U. (1966). Treatment of chronic portal-systemic encephalopathy with lactulose. *Lancet*, 287, 890-893.
- Nankova, B., Agarwal, R., MacFabe, D., & La Gamma, E. (2014). Enteric bacterial metabolites propionic and butyric acid modulate gene expression, including creb-dependent catecholaminergic neurotransmission, in pc12 cells-possible relevance to autism spectrum disorders. *PLoS ONE*, 9, e103740.
- Navarro, F., Liu, Y., & Rhoads, J. (2016). Can probiotics benefit children with autism spectrum disorders? *World Journal of Gastroenterology*, 22, 10093.



- Nazzaro, F., Fratianni, F., Coppola, R., Sada, A., & Orlando, P. (2009). Fermentative ability of alginate-prebiotic encapsulated *Lactobacillus acidophilus* and survival under simulated gastrointestinal conditions. *Journal of Functional Foods*, *1*, 319-323.
- Nilsson, U., Oste, R., Jagerstad, M., & Birkhed, D. (1988). Cereal fructans: In vitro and in vivo studies on availability in rats and humans. *Journal of Nutrition*, *118*, 1325-1330.
- Niva, M. (2007). 'All foods affect health': understandings of functional foods and healthy eating among health-oriented Finns. *Appetite*, *48*(3), 384-393.
- Panesar, P., & Kumari, S. (2011). Lactulose: production, purification and potential applications. *Biotechnology Advances*, *29*(6), 940-948.
- Panesar, P., Kumari, S., & Panesar, R. (2013). Biotechnological approaches for the production of prebiotics and their potential applications. *Critical Reviews in Biotechnology*, *33*(4), 345-364.
- Parada Venegas, D., De la Fuente, M., Landskron, G., González, M., Quera, R., Dijkstra, G., . . . Hermoso, M. (2019). Short chain fatty acids (SCFAs)-mediated gut epithelial and immune regulation and its relevance for inflammatory bowel diseases. *Frontiers in Immunology*, *102*, 77.
- Park, J., Kim, M., kang, S., Jannasch, A., Cooper, B., Patterson, J., & Kim, C. (2015). Short-chain fatty acids induce both effector and regulatory T cells by suppression of histone deacetylases and regulation of the mTOR-S6K pathway. *Mucosal Immunology*, *8*(1), 80-93.
- Parkar, S. G., Redgate, E. L., Wibisono, R., Luo, X., Koh, E. T., & Schroder, R. (2010). Gut health benefits of kiwifruit pectins: Comparison with commercial functional polysaccharides. *Journal of Functional Foods*, *2*, 210-218.
- Parkar, S., Blatchford, P., Kim, C., Rosendale, D., & Ansell, J. (2015). New and tailored prebiotics: Established applications. In *Probiotics and Prebiotics: Current Research and Future Trends* (1st edition (eds K. Venema and A.P. do Carmo) ed.). Norfolk, UK: Caister Academic Press.
- Paseephol, T., & Sherkat, F. (2009). Probiotic stability of yoghurts containing Jerusalem artichoke inulins during refrigerated storage. *Journal of Functional Foods*, *1*, 311-318.
- Patel, S., & Goyal, A. (2012). The current trends and future perspectives of prebiotics research: a review. *3 Biotech*, *2*(2), 115-125.
- Posovszky, C., & Wabitsch, M. (2015). Regulation of appetite, satiation, and body weight by enteroendocrine cells. Part 2: therapeutic potential of enteroendocrine cells in the treatment of obesity. *Hormone Research in Paediatrics*, *83*(1), 11-18.
- Prasad, S., Dhiman, R., Duseja, A., Chawla, Y., Sharma, A., & Agarwal, R. (2007). Lactulose improves cognitive functions and health-related quality of life in patients with cirrhosis who have minimal hepatic encephalopathy. *Hepatology*, *45*, 549-559.
- Praveen, M., Parvathy, K., Balasubramanian, P., & Jayabalan, R. (2019). An overview of extraction and purification techniques of seaweeds dietary fibers for immunomodulation on gut microbiota. *Trends in Food Science & Technology*, *92*, 46-64.
- Rafter, J., B. M., Caderni, G., Clune, Y., Hughes, R., Karlsson, P., . . . Rechkemmer, G. (2007). Dietary synbiotics reduce cancer risk factors in polypectomized and colon cancer patients. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *85*(2), 488-496.
- Rastall, R. (2010). Functional oligosaccharides: application and manufacture. *Annual Review of Food Science and Technology*, *1*, 305-339.

- Rigo-Adrover, M., Saldaña-Ruiz, S., Van Limpt, K., Knipping, K., Garssen, J., Knol, J., . . . Pérez-Cano, F. (2017). A combination of scGOS/lcFOS with *Bifidobacterium breve* M-16V protects suckling rats from rotavirus gastroenteritis. *European Journal of Nutrition*, *56*(4), 1657-1670.
- Rivera, G., Bocanegra-García, V., & Monge, A. (2010). Traditional plants as source of functional foods: a review Plantas tradicionales como fuente de alimentos funcionales: una revisión, *CyTA-J. Food* *8*(2), 159-167.
- Rivero-Urgell, M., & Santamaria-Orleans, A. (2001). Oligosaccharides: Application in infant food. *Early Human Development*, *65*, S43-S52.
- Roberfroid, M. (2000). A European consensus of scientific concept of functional foods. *Nutrition*, *16*(7-8), 689-691.
- Roberfroid, M. (2002). Functional food concept and its application to prebiotics. *Digestive and Liver Disease*, *34*, S105-S110.
- Roberfroid, M., Gibson, G., Hoyles, L., McCartney, A., Rastall, R., Rowland, I., . . . Guarner, F. (2010). Prebiotics effects: metabolic and health benefits. *British Journal of Nutrition*, *104*(S2), S1-S63.
- Rumessen, J., Bode, S., Hamberg, O., & Gudman-Hoyer, E. (1990). Fructans of Jerusalem artichokes: Intestinal transport, absorption, fermentation and influence on blood glucose, insulin and C-peptide responses in healthy subjects. *American Journal of Clinical Nutrition*, *52*, 675-681.
- Sabater, C., Prodanov, M., Olano, A., Corzo, N., & Montilla, A. (2016). Quantification of prebiotics in commercial infant formulas. *Food Chemistry*, *194*, 6-11.
- Sako, T., Matsumoto, K., & Tanaka, R. (1999). Recent progress on research and applications of non-digestible galactooligosaccharides. *International Dairy Journal*, *9*, 69-80.
- Samanta, A., Jayapal, N., Jayaram, C., Roy, S., Kolte, A., Senani, S., & Sridhar, M. (2015). Xylooligosaccharides as prebiotics from agricultural by-products: production and applications. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, *5*(1), 62-71.
- Sanz, T. A., Salvador, A., Jiménez, A., & Fiszman, S. M. (2008). Yogurt enrichment with functional asparagus fibre. Effect of fibre extraction method on rheological properties, colour, and sensory acceptance. *European Food Research and Technology*, *227*, 1515-1521.
- Savignac, H., Corona, G., Mills, H., Chen, L., Spencer, J., Tzortzis, G., & Burnet, P. (2013). Prebiotic feeding elevates central brain derived neurotrophic factor, n-methyl-d-aspartate receptor subunits and d-serine. *Neurochemistry International*, *63*, 756-764.
- Schumann, C. (2002). Medical, nutritional and technological properties of lactulose. *An update. European Journal of Nutrition*, *41*(1), i17-i25.
- Scott, K., Gratz, S., Sheridan, P., Flint, H., & Duncan, S. (2013). The influence of diet on the gut microbiota. *Pharmacological Research*, *69*, 52-60.
- Seong, H., Bae, J., Seo, J., Kim, S., Kim, T., & Han, N. (2019). Comparative analysis of prebiotic effects of seaweed polysaccharides laminaran, porphyran, and ulvan using in vitro human fecal fermentation. *Journal of Functional Foods*, *57*, 408-416.
- Shao, A., Campbell, W., Chen, C., Mittendorfer, B., Rivas, D., & Griffiths, J. (2017). The emerging global phenomenon of sarcopenic obesity: Role of functional foods; a conference report. *Journal of Functional Foods*, *33*, 244-250.

- Sharma, M., & Shukla, G. (2016). Metabiotics: one step ahead of probiotics; an insight into mechanisms involved in anticancerous effect in colorectal cancer. *Frontiers in Microbiology*, *7*, 1940.
- Shukla, S., Shukla, A., Mehboob, S., & Guha, S. (2011). Meta-analysis: The effects of gut flora modulation using prebiotics, probiotics and synbiotics on minimal hepatic encephalopathy. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, *33*, 662-671.
- Silva, M., Albuquerque, T., Alves, R., Oliveira, M., & Costa, H. (2020). Melon (*Cucumis melo* L.) by-products: potential food ingredients for novel functional foods? *Trends in Food Science and Technology*, *98*, 181-189.
- Silvério, S., Macedo, E., Teixeira, J., & Rodrigues, L. (2015). Perspectives on the biotechnological production and potential applications of lactosucrose: A review. *Journal of Functional Foods*, *19*, 74-90.
- Slavin, J. (2013). Fiber and prebiotics: Mechanisms and health benefits. *Nutrients*, *5*, 1417-1435.
- Stoidis, C., Misiakos, E., Patapis, P., Fotiadis, C., & Spyropoulos, B. (2011). Potential benefits of pro-and prebiotics on intestinal mucosal immunity and intestinal barrier in short bowel syndrome. *Nutrition Research Reviews*, *24*(1), 21-30.
- Sudo, N., Chida, Y., Aiba, Y., Sonoda, J., Oyama, N., Yu, X., . . . Koga, Y. (2004). Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic–pituitary–adrenal system for stress response in mice. *The Journal of Physiology*, *558*, 263-275.
- Sun, Y., & O'Riordan, M. (2013). Regulation of bacterial pathogenesis by intestinal short-chain fatty acids. In *Advances in Applied Microbiology* (1st edition (eds S. Sariaslani and G.M. Gadd) ed., Vol. 85). Academic Press.
- Thamer, K., & Penna, A. (2005). Effect of whey, sugar and fructooligosaccharides on the probiotic lactic acid bacteria population in fermented beverages. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, *41*(3), 393-400.
- Theuwissen, E., & Mensink, R. P. (2007). Simultaneous intake of {beta}-glucan and plant stanol esters affects lipid metabolism in slightly hypercholesterolemic subjects. *Journal of Nutrition*, *137*, 583-588.
- Tian, Y., Xu, Q., Sun, L., Ye, Y., & Ji, G. (2018). Short-chain fatty acids administration is protective in colitis-associated colorectal cancer development. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, *57*, 103-109.
- Torres, D., Gonçalves, M., Teixeira, J., & Rodrigues, L. (2010). Gacto-oligosaccharides: production, properties, applications, and significance as prebiotics. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *9*(5), 438-454.
- Trautwein, E. A., Rieckhoff, D., & Erbersdobler, H. F. (1998). Dietary inulin lowers plasma cholesterol and triacylglycerol and alters biliary bile acid profile in hamsters. *Journal of Nutrition*, *128*, 1937-1943.
- Tung, T., Yang, C., Chuang, C., Lin, C., & Chen, J. (2018). Isomalto-oligosaccharides improve constipation in peritoneal dialysis patients—a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Acta Nephrologica*, *32*(4), 171-176.
- Ukeyima, M., V.N., E., & Sanni, T. (2010). Current applications of probiotic foods in Africa. *African Journal of Biotechnology*, *9*(4).
- Van der Beek, C., Dejong, C., Troost, F., Masclee, A., & Lenaerts, K. (2017). Role of short-chain fatty acids in colonic inflammation, carcinogenesis, and mucosal protection and healing. *Nutrition Reviews*, *75*(4), 286-305.

- van der Waij, D., Berghuis-De Vries, J. M., & Lekkerkerk-van der Wees, J. E. (1971). Colonization resistance of the digestive tract in conventional and antibiotic-treated animals. *Journal of Hygiene*, *69*, 405-411.
- Van Laere, K., Bosveld, M., Schols, H., Beldman, G., & Voragen, A. (1997). Fermentative degradation of plant cell wall derived oligosaccharides by intestinal bacteria. In *Non-digestible oligosaccharides: Healthy food for the colon? Proceedings of the international symposium* (R. Hartemink ed., p. 37-46). Wageningen, Netherlands: Wageningen Graduate School.
- Van Loo, J., Clune, Y., Bennett, M., & Collins, J. (2005). The SYNCAN project: goals, set-up, first results and settings of the human intervention study. *British Journal of Nutrition*, *93*(S1), S91-S98.
- Vanhoof, K., & De Schrijver, R. (1995). Effect of unprocessed and baked inulin on lipid metabolism in normo- and hypercholesterolemic rats. *Nutrition Research*, *15*, 1637-1646.
- Vera, C., Córdova, A., Aburto, C., Guerrero, C., Suárez, S., & Ilanes, A. (2016). Synthesis and purification of galacto-oligosaccharides: state of the art. *World Journal Of Microbiology and Biotechnology*, *32*(12), 197.
- Vernazza, C., Rabiou, B., & Gibson, G. (2006). Human colonic microbiology and the role of dietary intervention: introduction to prebiotics. In *Prebiotics: Development and Application* (1st edition (eds G.R. Gibson and R.A. Rastall) ed.). John Wiley and Sons, Ltd.
- Walter, T. (1999). Bread goes prebiotic. *International Food INGredients*, *2*, 20-21.
- Wang, Y. (2009). Prebiotics: Present and future in food science and technology. *Food Research International*, *42*(1), 8-12.
- Wang, Y., Guo, Q., Goff, H., & LaPointe, G. (2019). Oligosaccharides: structure, function and application. In *Encyclopedia of Food Chemistry* (1st edition (eds L. Melton, F. Shahidi and P. Varelis ed.). Academic Press.
- Weber, F. J. (1996). Lactulose and combination therapy of hepatic encephalopathy: The role of the intestinal microflora. *Digestive Diseases*, *14*, 53-63.
- Williams, S., Chen, L., Savignac, H., Tzortzis, G., Anthony, D., & Burnet, P. (2016). Neonatal prebiotic (bgos) supplementation increases the levels of synaptophysin, glun2a-subunits and bdnf proteins in the adult rat hippocampus. *Synapse*, *70*, 121-124.
- Wu, X., Wu, Y., He, L., Wu, L., Wang, X., & Liu, Z. (2018). Effects of the intestinal microbial metabolite butyrate on the development of colorectal cancer. *Journal of Cancer*, *9*(14), 2510.
- Wu, Y., Pan, L., Shang, Q., Ma, X., Long, S., Xu, Y., & Piao, X. (2017). Effects of isomalto-oligosaccharides as potential prebiotics on performance, immune function and gut microbiota in weaned pigs. *Animal Feed Science and Technology*, *230*, 126-135.
- Yazici, F., & Akgun, A. (2004). Effect of some protein based fat replacers on physical, chemical, textural, and sensory properties of strained yoghurt. *Journal of Food Engineering*, *62*, 145-254.
- Zhai, S., Zhu, L., Qin, S., & Li, L. (2018). Effect of lactulose intervention on gut microbiota and short chain fatty acid composition of C57BL/6J mice. *MicrobiologyOpen*, *7*(6), e00612.
- Zhang, C., Abdo, A., Kaddour, B., Wu, Q., Xin, L., Li, X., . . . Teng, C. (2020). Xylan-oligosaccharides ameliorate high fat diet induced obesity and glucose intolerance and modulate plasma lipid profile and gut microbiota in mice. *Journal of Functional Foods*, *64*, 103622.

- Zheng, L., Chen, X., & Cheong, K. (2020). Current trends in marine algae polysaccharides: The digestive tract, microbial catabolism, and prebiotic potential. *International Journal of Biological Macromolecules*, 151, 344-354.
- Zhong, Y., Cai, D., Cai, W., Geng, S., Chen, L., & Han, T. (2009). Protective effect of galactooligosaccharide-supplemented enteral nutrition on intestinal barrier function in rats with severe acute pancreatitis. *Clinical Nutrition*, 28(5), 575-580.
- Zimeri, J., & Kokini, J. (2003). Rheological properties of inulinwaxy maize starch systems. *Carbohydrate Polymers*, 52, 67-85.