

## Prebiotički supstrati i bakterije mliječne kiseline

Rajka Božanić i Ljubica Tratnik

Revijalni prikaz - Review

UDK: 579.864.1:873.13

### Sažetak

*Radi sve veće popularizacije proizvoda prirodnog podrijetla, osobito u području prehrane i prehrambenih aditiva, u posljednje je vrijeme intenzivirana uporaba sporo apsorbirajućih i neapsorbirajućih šećera kao supstrata za bakterije mliječne kiseline i kao prebiotika za ljudsku prehranu. Ljudsko debelo crijevo sadrži veliku koncentraciju bakterija ( $10^{12}$  po gramu suhe tvari sadržaja debelog crijeva), a noviji radovi pokazuju da bifidobakterije i laktobacili, najbrojnije uobičajene anaerobne bakterije u mikroflori ljudskog debelog crijeva, korisno djeluju na zdravlje domaćina. Glavni čimbenik za razmnožavanje bifidobakterija u ljudskom probavnom sustavu je dijetalni šećer, pa korištenje neprobavljivih oligosaharida - kao što su rafinoza, fruktooligosaharidi, galaktozillaktoza, izomaltooligosaharidi ili transgalaktozilo-  
ligosaharidi - uzrokuju porast broja endogenih bifidobakterija i neke promjene kod bakterija mliječne kiseline. U radu su prikazani pregledi prebiotika i njihovih osobina kao i kriteriji za selekciju te sigurnost prebiotika i supstrata.*

*Ključne riječi: prebiotici, probiotici, bakterije mliječne kiseline, bifidobakterije*

### Uvod

Posljednjih je godina uočeno prisustvo velikog broja bifidobakterija i laktobacila ne samo u probavnom sustavu dojenčadi, nego i u zdravim odraslim ljudima te različitim životinjama. Koji će mikroorganizmi dominirati u ljudskom organizmu, ovisi o njihovoj individualnoj fiziologiji. S obzirom da je poznato kako bolest i starenje dovode do smanjenja, pa i gubitka nekih vrsta bakterija, već dulje vrijeme se pokušava povećati broj bakterija mliječne kiseline u probavnom sustavu. Danas potrošači sve više zahtijevaju prirodne proizvode, osobito u području prehrane i prehrambenih aditiva. Radi toga u posljednje se vrijeme počelo koristiti sporo apsorbirajuće i neapsorbirajuće šećere kao supstrate za bakterije mliječne kiseline i kao prebiotike za ljudsku prehranu (dijetalna vlakna).

Ljudsko debelo crijevo sadrži veliku koncentraciju bakterija ( $10^{12}$  po gramu suhe tvari sadržaja debelog crijeva). Pretpostavlja se da je ugljik i energija potrebna za održavanje tako velike bakterijske mase dobivena iz ugljikohidrata u izlučevinama domaćina ili iz dijetnih ugljikohidrata koji nisu probavljivi u tankom crijevu. Najnoviji radovi pokazuju da su bifidobakterije i laktobacili najbrojnije uobičajene anaerobne bakterije u mikroflori ljudskog debelog crijeva

i da imaju povoljan učinak na domaćina (Bengmark, 1998.). Na primjer, u pedijatriji kod tvrdokornog proljeva, korištenje kulture *Lactobacillus* (*Lactobacillus* GG) ili *Bifidobacterium* preparata normalizira nenormalnu mikrofloru i sprečava diareu. Slično, tijekom rotavirus diaree korištenjem *Lactobacillus* preparata trajanje diaree se može smanjiti za 50% (Salminen, 1998.). Sve je više dokaza (Ballongue i sur., 1997.; Bengmark, 1998.; Giacosa, 1998.; Gibson i sur., 1998.; Salminen i sur., 1998.) da su za povećanje broja bakterija mliječne kiseline, i specifično bifidobakterija, u probavnom sustavu neophodni prebiotici. Prebiotici se smatraju »hranom debelog crijeva« tj. hranom koja je neprobavljena ušla u debelo crijevo i služi kao supstrat endogenih bakterija debelog crijeva, što neizravno opskrbljava domaćina energijom, metaboličkim supstratima i esencijalnim mikronutrientima. Neki prebiotici, kao inulin i sojini oligosaharidi, su izolirani iz prirodnih izvora. U posljednje vrijeme industrijskim procesima je razvijena proizvodnja slaboapsorbirajućih supstrata kao frukto-, galakto- i ksilo-oligosaharidi, neki od njih su prebiotici kao laktuloza, laktitol, ksilitol, sorbitol i manitol. Neškodljivost oligosaharida i supstrata za bakterije mliječne kiseline i bifidobakterije nije još dobro proučena unatoč činjenici da su mnogi od njih prirodni sastojci hrane (na primjer laktuloza u toplinski obrađenom mlijeku) u raznim dijetama. Dok su za poliole (ksilitol, sorbitol, manitol i laktitol) kompletirani toksikološki testovi, za druge supstrate, uključivši oligosaharide, nije provedena intenzivna toksikološka studija. Predpostavlja se da oni ne predstavljaju veliku opasnost jer su to prirodni spojevi ili su sastavljeni od prirodnih komponenata. Međutim dozvoljene količine prebiotika u hrani su vrlo različite od zemlje do zemlje, jer još uvijek nije napravljena internacionalna toksikološka procjena.

### **Pojam prebiotika**

Glavni čimbenik za razmnožavanje bifidobakterija u ljudskom probavnom sustavu je dijetalni šećer. Npr. korištenje neprobavljivih oligosaharida kao što su rafinoza, fruktooligosaharidi, galaktozillaktoza, izomaltooligosaharidi ili transgalaktoziloligosaharidi (TOS), uzrokuje porast broja endogenih bifidobakterija i neke promjene kod bakterija mliječne kiseline. Žive bakterije iz probavnog sustava (uglavnom bakterije mliječne kiseline) sa specifičnim karakteristikama poznate su pod nazivom probiotici (Fuller, 1992.). Oni su prema definiciji Havenaar i Huis in't Veld (1992.) jedna ili više kultura živih stanica mikroorganizama koje, primjenjene u životinja ili ljudi, djeluju korisno na domaćina, poboljšavajući svojstva autohtone kulture. Probiotičko djelovanje bakterija može se manifestirati inhibicijom rasta nepoželjnih mikroorganizama, promjenom mikrobnog metabolizma u probavnom traktu te stimulacijom imuno sustava (Šušković i sur., 1998.). Najčešći probiotici su bakterije mliječne kiseline i bifidobakterije.

Kasnije, pokušajem karakterizacije djelovanja dijetalnog ne alfa-glukan tipa ugljikohidrata sa selektivnom stimulacijom rasta i/ili metaboličke aktivnosti jedne ili ograničenog broja bakterija debelog crijeva Gibson i Roberfroid (1995.), uvode pojam prebiotika, a kombinaciju iste hrane s pro- i prebiotikom - sinbiotik. Prebiotik je definiran kao: *Neprobavljiv sastojak hrane koji povoljno utječe na domaćina selektivnom stimulacijom rasta i/ili aktivnosti jedne ili ograničenog broja bakterija u debelom crijevu što poboljšava zdravlje domaćina.* Slično probioticima, prebiotici pripadaju generalno u klasu »hrane debelog crijeva« tj. hrane koja je ušla u debelo crijevo i služi kao supstrat endogenih bakterija debelog crijeva, što neizravno opskrbljava domaćina energijom, metaboličkim supstratima i esencijalnim mikronutrientima (Gibson i Roberfroid, 1995.). Povezanost promjene broja određene bakterijske vrste ili soja po gramu fecesa i doze prebiotičkih oligosaharida nije još do kraja jasna. Čini se da je početni broj bakterija u fecesu prije djelovanja prebiotika ključni parametar u određivanju faktora umnožavanja (inverzna veza s dozom prebiotika) kao i apsolutnog porasta broja bakterija (izravna veza) (Roberfroid i sur., 1998.). Da bi bio klasificiran kao prebiotik, sastojak hrane mora zadovoljavati sljedeće uvjete:

1. da se ne hidrolizira, ni apsorbira u gornjem dijelu gastrointestinalnog sustava
2. da selektivno stimulira rast potencijalno korisnih bakterija u debelom crijevu
3. da sprečava rast patogena i virulenciju (zaraznost), inducirajući sistemske efekte koji mogu koristiti zdravlju.

Za povećanje broja bakterija mliječne kiseline, i specifično bifidobakterija, u probavnom sustavu neophodni su prebiotici. Proizvodnja mliječne i drugih organskih kiselina od strane bakterija mliječne kiseline kao i bifidobakterija ovisi o metabolizmu ugljikohidratnih supstrata koji nisu apsorbirani ili metabolizirani u gornjem probavnom sustavu prije dolaska u debelo crijevo. Neki prebiotici, kao inulin i sojini oligosaharidi, izolirani su iz prirodnih izvora. U posljednje vrijeme industrijskim procesima razvijena je proizvodnja slaboposorbirajućih supstrata kao frukto-, galakto- i ksilo-oligosaharidi, neki od njih su prebiotici kao laktuloza, laktitol, ksilitol, sorbitol i manitol.

Pojava karcinoma debelog crijeva vrlo je rijetka u nekim područjima Afrike gdje je tradicionalno unos dijetalnih vlakana velik. Na osnovi toga Burkitt (1971.) postavlja hipotezu da dijetalna vlakna mogu sprečavati pojavu karcinoma debelog crijeva povećavajući volumen stolice, učestalost, razrjeđujući sadržaj te smanjujući kontakt kancerogena iz stolice s debelim crijevom. Vlakna mogu vezati žučne kiseline koje proizvode kancerogene metabolite. Fermentacijom vlakana nastaju kratkolančane hlapljive masne kiseline koje također djeluju protiv karcinoma debelog crijeva bilo izravnim anti-kancerogenim djelovanjem

bilo snižavanjem vrijednosti pH što sprečava konverziju primarnih u sekundarne žučne kiseline, koje mogu biti kancerogenozne (Nagengast i sur., 1995.). Iako su istraživanja o povezanosti karcinoma debelog crijeva i unosa dijetalnih vlakana još u tijeku, pozitivna korelacija je dokazana (Giacosa, 1998.; Negri i La Vecchia, 1998.; Vernia, 1998.). Novija istraživanja pokazuju također pozitivnu korelaciju unosa dijetalnih vlakana i karcinoma dojke (Giacosa, 1998.).

Dijetalna vlakna mogu povoljno djelovati u tretmanu diabetesa. Riccardi i Rivellese (1991.) i Riccardi (1998.) su ustanovili da dijeta bogata vlaknima (prirodnog podrijetla) tijekom duljeg perioda pokazuje koristan učinak na dijabetičare. Uspoređujući dijetu siromašnu ugljikohidratima i vlaknima, a s jednakom količinom masti, s dijetom bogatom vlaknima, ustanovljeno je značajno poboljšanje nivoa količine glukoze u krvi (smanjenje za oko 25%). Količina LDL kolesterola (low density lipid cholesterol) bila je smanjena za oko 25%.

### *Neprobavljivi oligosaharidi*

#### **A. Rafinoza**

Rafinoza je trisaharid ( $\text{Gal}(\alpha 1 \rightarrow 6)\text{Glc}(\alpha 1 \rightarrow \beta)\text{-Fru}$ ) dobiven iz nekih biljaka, najčešće iz šećerne repe. S obzirom da je smatrana neprobavljivom u humanom probavnom sustavu, pri većem konzumiranju može u debelom crijevu biti prisutna u znatnim koncentracijama. Ipak ustanovljeno je da neke bakterije probavnog sustava, *Bifidobacterium* spp. i *Bacteroides* spp. kao predstavnici fekalne mikrobne populacije, mogu koristiti za rast. Benno i sur. (1987.) su pokazali da 4-tjedno uzimanje 15 g/dan rafinoze značajno povećava broj bifidobakterija u ljudskom fecesu. Istovremeno je opadao broj klostridija i *Bacteroidaceae*. Također, fekalna pH-vrijednost je lagano opala tijekom perioda uzimanja rafinoze. To može imati povoljni utjecaj na konstipaciju i druge poremećaje probavnog sustava (Salminen i sur., 1998.).

#### **B. Sojini oligosaharidi**

Sojini oligosaharidi sadrže stahilozu, rafinozu i saharozu koje su povezane galaktoznim vezama sa saharozom. Oligosaharidi su proizvedeni iz ploda soje ekstrakcijom i pročišćavanjem. Suprotno drugim oligosaharidima, proizvodnja sojinih oligosaharida ne uključuje sintetičke korake. Sojini oligosaharidi su termostabilni, te stabilni na kiselinu i njihova stabilnost je usporediva sa stabilnošću saharoze.

Hayakawa i sur. (1990.) daju kratku studiju o utjecaju sojinih oligosaharida na ljudsku fekalnu mikrofloru. Pročišćene frakcije stahiloze i rafinoze iz sojinih oligosaharida su fermentirane s *Bifidobacteria* spp. (in vitro). Uzimanje sojinih oligosaharida u količini 10 g/dan uzrokuje značajan porast broja bifidobakterija u fecesu dobrovoljaca. U isto vrijeme zapaženo je smanjenje broja štetnih bakterija probavnog sustava. Ta zapažanja su u skladu s ranijim

istraživanjima Yazawa i sur. (1978.) i Benno i sur. (1987.) da rafinoza i stahiloza, kao dijelovi sojinih oligosaharida, povećavaju broj bifidobakterija u ljudskom fecesu.

### C. Fruktooligosaharidi

Fruktooligosaharidi su neprobavljivi oligosaharidi ne -L glukan tipa koji su sastavljeni od glukozil-(fruktozil)<sub>n-1</sub>-fruktoze (GF<sub>n</sub>) i (fruktozil)<sub>m-1</sub>-fruktoze (F<sub>m</sub>). Indeks m ili n predstavlja »SP« ili stupanj polimerizacije, odnosno broj fruktozilnih jedinica.

Inulin je polifruktozan, izgrađen od jedinica fruktofuranoze povezanih 2→1 vezom. Lanac završava glukozom povezanom kao u saharozi. Molekula ima manje od 100 monosaharidnih jedinica, pa je zato lako topljiva u vodi (Karlson, 1988.). Inulin (GF<sub>n</sub>) i inulin hidrolizati (GF<sub>n</sub> i F<sub>m</sub>) prirodno se nalaze u jestivim biljkama kao što su luk, šparoge, poriluk, banane, pšenica i jeruzalemske artičoke. Također predstavljaju glavni izvor energije u korijenu cikoriije. Inulin se industrijski dobiva ekstrakcijom korijena cikoriije vrućom vodom. To je mješavina fruktooligosaharida GF<sub>n</sub> tipa s SP 2-60, u prosjeku SP 10. Njegovom djelomičnom enzimatskom hidrolizom proizvedena je smjesa manjih oligomera tipa GF<sub>n</sub> (63%) i F<sub>m</sub> (37%) sa SP od 2-8, u prosjeku SP 4,8. Inulin hidrolizat još se zove oligofruktoza. I inulin i oligofruktoza su u većini europskih zemalja poznati pod nazivom »prirodni sastojci hrane« i klasificirani kao dijetna vlakna (Roberfroid, 1993.). U prehrambenoj industriji se koriste kao volumizatori ili kao zamjena masti (Franck, 1995.).

Inulin je blagog, neutralnog okusa, bez ikakvog paokusa. Inulin također može služiti kao zamjena masti: kada se miješa s vodom tvori gel te daje kremastu teksturu izvrsnih okusnih karakteristika. Stabilizira pjenjenje i emulgiranje te djeluje sinergistički s većinom želirajućih agenasa. Oligofruktoza je topljivija i srednje slatka. Profil slatkoće je vrlo blizak šećeru i nema priokusa. U kombinaciji s jakim zaslađivačima, oligofruktoza ublažava njihov priokus i pomaže izražajnosti glavnog (voćnog) okusa. Oligofruktoza također djeluje na teksturu i paokus pokazujući svojstva vezanja vode, reducirajući aktivnost vode i djelujući na točku vrenja i smrzavanja. Korištenje inulina i oligofruktoze u prehrambenim proizvodima je jednostavno i doprinosi boljim senzorskim karakteristikama proizvoda. Oni se već uspješno primjenjuju u proizvodnji nekoliko poznatih mliječnih proizvoda kao što su jogurt, fermentirana mlijeka, svježi sir, mliječni napici i deserti (Franck, 1998.).

Sintetski fruktooligosaharidi dobiveni su enzimatskim prijenosom jedinica fruktoze iz molekula saharoze. Oni su GF<sub>n</sub> tipa, nitoza (GF<sub>3</sub>) i fruktosilnitoza (GF<sub>3</sub>).

Fruktooligosaharidi su neprobavljivi pa pripadaju grupi hrane debelog crijeva. Radi selektivne fermentacije bifidobakterijama također se klasificiraju



kao prebiotici. Kod ljudi koji su ih uzimali dnevno u količini 4-20 g selektivno je stimuliran rast bifidobakterija (tablica 1 sadrži reference).

Za inulin i njegove hidrolizate, također je pokazano da je uz razmnožavanje bifidobakterija zapaženo značajno opadanje broja bakteroida i klostridija u fecesu. Fermentacijom fruktooligosaharida u debelom crijevu povećava se biomasa fecesa, te njegova težina, on postaje rahlji i smanjeno je stvaranje tvari truljenja (Hidaka i sur., 1990.; Gibson i sur., 1995.). Fermentacijom u debelom crijevu nastaju kratkolančane masne kiseline (uglavnom acetati, propionati i butirati) i laktati što uzrokuje pad fekalnog pH. Kratki lanci masnih kiselina (2-4 C) nisu prirodno prisutni u hrani nego nastaju isključivo kao nusproizvod katabolizma neapsorbirajućih ugljikohidrata u debelom crijevu. Oni pomažu vezanju natrija i klorida (Binder, 1998.). Reapsorpcijom kratkih lanaca masnih kiselina dio energije je sačuvan: efektivna kalorijska vrijednost je procijenjena na 1-1,5 kcal/g (Roberfroid, 1997.). Butirat može imati ulogu u održavanju funkcije epitelnih stanica i u prevenciji karcinogeneze debelog crijeva. Inulin i oligofruktosaharidi djeluju na aktivnost bakterijskih enzima te reduciraju kemijski inducirane prokancerogene lezije u debelom crijevu štakora (Reddy i sur., 1997.). Oni također poboljšavaju apsorpciju nekih esencijalnih minerala kao što je kalcij (Frank, 1998.) i magnezij (Ohta i sur., 1995.). Nije primijećen negativan utjecaj povećane apsorpcije kalcija na apsorpciju drugih minerala kao što je magnezij, željezo ili cink. Coudray i sur. (1997.) u svojim su istraživanjima davali devetorici zdravih dobrovoljaca 40 g/danu inulina tijekom 26 dana (2 dana kontrolna dijeta; 14 dana progresivno povećavanje količine inulina i 12 dana maksimalna količina inulina). Apsorpcija kalcija je mjerena određivanjem mineralnog sadržaja urina i fecesa tijekom 8 dana (od 20. do 28. dana). Apsorpcija kalcija je značajno povećana ( $p < 0,01$ ) sa 21,3% na 33,7%, što predstavlja relativno povećanje od 58%.

Povećanje broja fekalnih bifidobakterija povezano je sa zdravstvenim boljitkom kao što je olakšavanje zatvora, stimulacija imuno sustava, sprečavanje infekcija probavnog sustava i kao moguća prevencija karcinoma.

Novije eksperimentalne studije navode pretpostavku da dijetna oligofruktoza može modulirati lipogenezu u jetri smanjenjem sinteze hepatičkih lipogenih enzima i sa porastom senzibilnosti na inzulin (Fiordaliso i sur., 1995.; Kok i sur., 1996.; Goldin i Gorbach, 1998.).

#### D. Galaktooligosaharidi

Galaktooligosaharidi su oligosaharidi koji stimuliraju razmnožavanje bifidobakterija. Prisutni su u majčinom mlijeku, kravljem mlijeku i komercijalnom jogurtu. Mješavina galaktooligosaharida nastaje iz laktoze enzimatskim djelovanjem  $\beta$ -D-galaktozidaze iz *Aspergillus oryzae* i *Streptococcus thermophilus* (Ito i sur., 1990.). Ista studija upućuje da primjena glukooligosaharida proizvedenih iz laktoze spomenutim enzimima značajno

Tablica 1: Različiti oligosaharidi, disaharidi i polioli koji utječu na intestinalnu mikrofloru (Salminen i sur., 1998.)

Table 1: Different oligosaccharides, disaccharides and polyols influencing the intestinal microflora (Salminen i sur., 1998)

Ugljikohidratni supstrat Carbohydrate substrate	Bakterije Bacteria	Literatura References
trans-galaktozil oligosaharidi	bifidobakterije	Kohomoto i sur., 1988.
4'-galaktozil laktoza	bifidobakterije	Ohtsuka i sur., 1989.
izomaltoligosaharidi	bifidobakterije	Homma, 1988.
galaktooligosaharidi (oligomati 50)	bifidobakterije i laktobacili	Ito i sur., 1990.
galaktozil oligosaharidi	bifidobakterije	Minami i sur., 1983.
sojini oligosaharidi	bifidobakterije i neki laktobacili	Hayakawa i sur., 1990.; Kobayashi i sur., 1984.; Saito i sur., 1992.
ksilooligosaharidi	bifidobakterije	Okazaki i sur., 1990.
palatinoza	bifidobakterije	Kashimura i sur., 1989.
laktitol	bakterije mliječne kiseline, bifidobakterije	Ballongue i sur., 1997.; Salminen i Salminen, 1997.; Felix i sur., 1990.; Salminen i Salminen, 1986.
ksilitol	bakterije mliječne kiseline	Salminen i sur., 1985.
laktuloza	bifidobakterije i bakterije mliječne kiseline	Ballongue i sur., 1997.; Salminen i Salminen, 1997.; Harju, 1991.; Terada i sur., 1990.
fruktooligosaharidi	bifidobakterije	
sintetski	bifidobakterije	Hidaka i sur., 1986.; Williams i sur., 1994.; Buddington i sur., 1990.
hidrolizati inulina	bifidobakterije	Gibson i sur., 1995.; Roberfroid i Gibson, 1996.; Roberfroid i sur., 1997.
inulin	bifidobakterije	Yamazaki i Dilawri, 1990.; Gibson i sur., 1995.; Roberfroid i sur., 1997.; Kleesen i sur., 1997.

utječe na fekalnu mikrofloru. Ukazano je na linearnu korelaciju između glukooligosaharida i fekalnih bifidobakterija. Također je došlo do porasta laktobacila u fecesu dobrovoljaca. Dnevna doza od 10 g/dan uzrokovala je značajne promjene. Nije bilo promjene u učestalosti i masi fecesa (Ito i sur., 1990.).

### E. Galaktozil laktoza

Galaktozil laktoza (GL) je trisaharid pronađen u majčinom mlijeku. GL se industrijski proizvodi u Japanu i dodaje komercijalnoj hrani za dojenčad radi poticanja rasta bifidobakterija u crijevima dojenčadi. Pokazalo se da GL mijenja svojstva fecesa dojenčadi hranjene majčinim mlijekom. U tablici 2 je prikazan odnos udjela organskih kiselina u fecesu dojenčadi koja je dojena, hranjene GL-formulom, te formulom bez dodatka GL.

Galaktozil laktoza je pogodna za dojenačke formule i druge mliječne proizvode jer povećava broj bifidobakterija u fekalnom uzorku. Iako nije rađena studija neškodljivosti, iskustva iz dojenačkih formula pokazuju sigurnost GL.

Tablica 2: Postotak organskih kiselina u fecesu dojene dojenčadi te dojenčadi hranjene GL-formulom ili formulom bez dodatka GL (Mitsuhashi i sur., 1992.)

Table 2: Percentage of organic acids and the pH in the feces of breast-fed, formula-fed and galactosyl lactose-fed infants (Mitsuhashi i sur., 1992)

Organska kiselina Organic acid (%)	Dojena dojenčad Breast-fed infants	Formulom hranjena dojenčad Formula-fed infants	GL-formulom hranjena dojenčad GL-formula fed infants
Octena Acetic	53,3	24,8	39,2
Mliječna Lactic	20,0	11,1	19,4
Propionska Propionic	4,3	12,8	11,6
Jantarna Succinic	6,2	19,7	14,4
Limunska Citric	4,8	7,9	5,5
Piruvatna Pyruvic	10,7	7,9	5,5
pH	5,59	6,66	5,74

### F. Palatinoza

Palatinoza (6-O-alfa-D-glukopiranozil-D-fruktoruranoza) je korištena u raznim prehrambenim proizvodima kao nekancerogeni zaslađivač. Smjesa palatinoze i njenih kondenzata dobivena je grijanjem otopine pod optimalnim



uvjetima. Kondenzati su klasificirani kao heterooligosaharidi sastavljeni od glukoznih i fruktoznih rezidua. Palatinoza je probavljiva, ali probavljivost kondenzata nije jasna. U humanoj studiji uzimanje palatinoze je povezano s velikim brojem bifidobakterija u fecesu (Kashimura i sur., 1989.).

### ***Disaharidi i druge prebiotičke alternative***

Laktuloza, laktitol, ksilitol, sorbitol i manitol su korišteni kao alternativa oligosaharidima. Oni se sporo apsorbiraju te služe kao supstrat bakterijama mliječne kiseline u debelom crijevu. Na mikrofloru probavnog sustava najbolje utječe laktitol, laktuloza i ksilitol. Sorbitol i manitol su promotori gram-negativne flore. Svi oni mogu izazvati diareu ako se konzumiraju u velikim količinama, međutim postupna prilagodba na veće doze brzo izaziva toleranciju (Salminen i Salminen, 1997.).

Prema WHO (1982.) polioli su karakterizirani kao potpuno sigurni, ADI (American dietary intake) vrijednost im je »neograničena«. Laktuloza je korištena u farmaceutskoj industriji već nekoliko desetljeća. Ne izaziva kontraindikacije. Akutna toksičnost za laktulozu (23-26 g/kg tjelesne težine) je u istom redu veličine kao i za saharozu (Salminen i sur., 1998.).

### ***Polioli***

#### **A. Laktitol**

Laktitol je disaharidni alkohol ((4-O-b-D-galaktopiranozil)-D-glucitol) proizveden hidrogenacijom laktoze ili laktuloze. Laktitol se može koristiti kao sirovina za druge oligosaharide (Harju, 1988.). Poznat je od 1912., njegovu proizvodnju spominje Aminoff 1974., ali tek se posljednjeg desetljeća obraća pažnja njegovim svojstvima (Harju, 1988.).

Laktitol se, kao i većina poliola, može primjenjivati u dijetalnoj hrani dijabetičara jer omogućava ograničen unos kalorija. Može se koristiti kao zaslađivač, ali zbog slabe slatkoće nije baš popularan. Proizvodi proizvedeni s laktitolom su vrlo ukusni i nemaju nikakvog paokusa. Laktitol se koristi i u farmaceutskoj industriji. Može se koristiti umjesto laktuloze kod nekih terapijskih aplikacija te u specijalnoj dijetalnoj hrani (Patil i sur., 1987.). Laktitol mijenja mikrofloru probavnog sustava i djeluje kao i laktuloza. Točnije, laktitol povećava broj bifidobakterija u debelom crijevu ljudi što su pokazala istraživanja sa skupinom koja je uzimala laktitol i kontrolnom skupinom kojoj je davan placebo, s i bez kombinacije s probioticima (Ballongue i sur., 1997.; Salminen i Salminen, 1997.; Bird, 1990.; Patil i sur., 1987.).  $\beta$ -galaktozidaza probavnog sustava ne može hidrolizirati laktitol i tako je on prepušten djelovanju bakterija mliječne kiseline i bifidobakterija u debelom crijevu. Gore spomenuta studija je pokazala da uzimanje laktitola povećava i broj bakterija mliječne kiseline i broj bifidobakterija u probavnom sustavu ljudi (Ballongue i sur., 1997.). Povećanje

broja fekalnih bifidobakterija je povezano sa zdravstvenim boljitkom kao na primjer olakšanom konstipacijom, prevencijom intestinalnih infekcija te prevencijom eksperimentalne karcinogeneze.

Laktitol je ekstenzivno toksikološki proučen. Sve potrebne toksikološke studije su završene uključujući dugotrajne karcinogenozne studije. Također su završene kratke studije o promjenama mikroflore crijeva (Salminen i Salminen, 1986.). Studije ukazuju na pojavu diaree uslijed konzumacije velikih doza laktitola, međutim nije zabilježen nikakav toksikološki efekt (WHO, 1982.). Znanstveni prehrambeni komitet Europske Unije (EU) prihvaća uporabu laktitola i većine drugih poliola u prehrambenoj industriji.

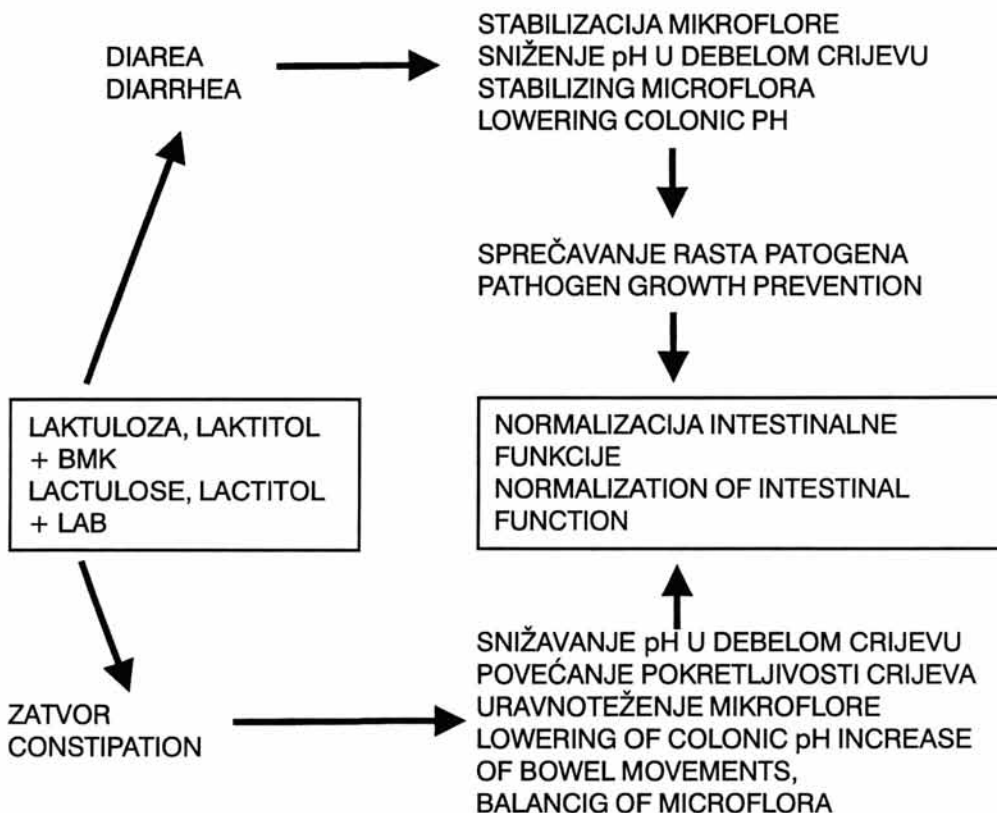
S obzirom da je laktitol tek od nedavno komercijalno dostupan, većina zemalja ga još nije klasificirala kao prehrambeni sastojak ili aditiv. Podružnica FAO/WHO JCEFA (The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) je rangirala laktitol ADI »ne specifičan« što znači da je potvrđena njegova sigurnost za zdravlje (WHO, 1982.). Laktitol je odobren kao prehrambeni aditiv u većini europskih zemalja, a koristi se i u farmaceutskoj industriji Švicarske.

## B. Laktuloza

Laktuloza ((4-O-b-D-galaktopiranozil)-D-fruktoza) je sintetski derivat laktoze. Suprotno laktozi, rezistentna je na hidrolitičko djelovanje intestinalne  $\beta$ -galaktozidaze, pa ne može biti apsorbirana u gornjem probavnom sustavu. Laktuloza se može koristiti za selektivnu modifikaciju mikroflore debelog crijeva, budući da je mogu koristiti samo bakterije mliječne kiseline i bifidobakterije. Laktuloza je na tržištu dostupna kao sirup koji sadrži 67% laktuloze i u kristaličnom obliku. Relativno je slabe slatkoće, ali je stabilna u većini hrane.

Laktuloza se može koristiti u većini tekuće hrane, ali radi slabe slatkoće nema veliku primjenu. Kao dodatak ima laksativna svojstva što otežava njeno korištenje u većini uobičajene hrane. Koristi se kao zaslađivač samo u specijalnoj dijetalnoj hrani za ljude koji pate od konstipacije. Laktuloza u dječjoj hrani i formulama povećava broj bifidobakterija u intestinalnoj flori dojenčeta koja je tada slična mikroflori djece koja su dojena (Mendez i Olano, 1979.). Laktuloza djeluje kao neapsorbirajući supstrat za bakterije debelog crijeva uzrokujući poželjne promjene u mikroflori te je pogodna za specijalnu dijetalnu hranu. Laktuloza ima veliku primjenu u farmaceutskoj industriji. Dijetalnom suplementacijom s laktulozom (3 g/danu tijekom 2 tjedna) kod dobrovoljaca značajno je povećan broj bifidobakterija u fecesu. Također je došlo do pada fekalnog pH i porasta sadržaja vode u fecesu. Značajno je opao nivo fekalne  $\beta$ -glukuronidaze, nitroreduktaze i azoreduktaze (Terada i sur., 1992.). Djelovanje je bilo jače kada je doza povećana na  $2 \times 10$  g laktuloze dnevno tijekom 3 tjedna. Dobiveni su isti rezultati, ali su vrijednosti puno veće (Ballongue i sur., 1997.). Povećanje broja fekalnih bifidobakterija je povezano sa zdravstvenim boljitkom

kao na primjer olakšanom konstipacijom, prevencijom intestinalnih infekcija te prevencijom eksperimentalne karcinogeneze. Slika 1 opisuje moguće djelovanje laktuloze u prevenciji diaree i olakšavanju konstipacije (Salminen i Salminen, 1997.).



Slika 1: Mogući mehanizam djelovanja laktuloze i laktitola u normalizaciji mikroflore probavnog sustava (prema Salminen i Salminen, 1997.)

Figure 1: Proposed mechanisms of action of lactulose and lactitol in normalizing intestinal microflora and function (adapted from Salminen i Salminen, 1997)

(BMK = bakterije mliječne kiseline; LAB = lactic acid bacteria)

Nije napravljena toksikološka studija laktuloze. Ipak ona se godinama koristi u tretmanu kronične konstipacije te kao laksans bolesnicima s cirozom jetre kojima prijeti sistemska portalna encefalopatija. Kod sistemske portalne encefalopatije pacijenti primaju velike doze laktuloze tijekom dugog perioda. Osim prolazne diaree nisu primijećeni drugi štetni učinci. I laktuloza i laktitol uzrokuju slične promjene intestinalne mikroflore. Imaju slično djelovanje na

probavljivost i metabolizam proteina u studijama sa životinjama, i obje su preporučene kao terapijski agens za portosistemska encefalopatiju (Patil i sur., 1987.; Bird, 1990.; Conn, 1997.; Weber, 1997.).

U većini zemalja laktuloza se koristi u farmaceutskoj industriji te povremeno u specijalnoj dijetalnoj hrani.

### C. Ksilitol

Ksilitol je pet ugljični šećerni alkohol za koji je dokazano da djeluje na mikrofloru usne šupljine i tako sprečava karijes. Bakterije usne šupljine ga ne mogu fermentirati, te se smatra nekariogeničnim agensom. Ksilitol ima jače antikarijesno djelovanje od sorbitola, kojeg mogu fermentirati neki mutanti streptokoka iz usne šupljine (Edgar, 1998.). Dnevno uzimanje 2-3 gume za žvakanje s ksilitolom značajno smanjuju pojavu karijesa (Birkhed, 1994.). Ksilitol se izravno konvertira u ksiluloza-5-P u jetri (Massillon i sur., 1998.). Ksilitol i laktitol uzrokuju manje promjene nivoa šećera u krvi i koncentracije inzulina nego glukoza. Dok je glikemični indeks glukoze 100, indeks ksilitola i laktitola je 7 i 1. Oba poliola su pogodna za prehranu dijabetičara (Natah i sur., 1997.). Istraživanja (Svanberg i sur., 1997.) su pokazala da dijeta s 10%-tnom suplementacijom ksilitolom smanjuje ovaritomijom izazvano opadanje količine kolagena te njihovih unakrsnih veza u kostima štakora. Dijeta s 10% ksilitola sprečava slabljenje biomehaničkih svojstava kostiju kod streptozotocin dijabetičnih štakora (Mattila i sur., 1998.). To je vezano s očuvanjem mineralnog sastava i volumena kostiju. Ksilitol ima jednaku slatkoću kao i saharoza te u ustima izaziva jaki efekt hlađenja. Prirodno se nalazi u klipovima kukuruza, stabljici pamuka i vinskom grožđu (Kedel i sur., 1997.). Velike količine ksilitola također djeluju na fekalnu mikrofloru ljudi i životinja (Salminen i sur., 1985.; Salminen i Salminen, 1997.) uzrokujući pad pH vrijednosti u debelom crijevu i porast gram-pozitivnih bakterija u fecesu. Ksilitol se je pokazao kao potencijalni inhibitor adhezije štetnih bakterija u studiji in vitro (Naaber i sur., 1996.) te u humanim studijama (Uhari i sur., 1996.). Čini se da ksilitol može biti potencijalni supstrat za neke bakterije mliječne kiseline i bifidobakterije, ali to je potrebno još dokazati. Ksilitol je proučavan u kratkoročnim i dugoročnim studijama i dokazana je njegova neškodljivost kao sastojka hrane te se on koristi kao sastojak hrane ili kao aditiv.

### D. Sorbitol

Sorbitol se uglavnom koristi kao zaslađivač dijetalne hrane, jer objedinjuje povećanje slatkoće, specifične karakteristike okusa i poboljšanje viskoznosti tekućina. Koristi se u slatkišima i gumama za žvakanje bez šećera te u hrani za dijabetičare. U kombinaciji s drugim šećerima sorbitol mijenja svojstva kristalizacije hrane. Kad se dodaje sirupima koji sadrže saharozu, smanjuje kristalizaciju tijekom čuvanja. Također se može koristiti kao sredstvo za vezanje

vode i stabilizator, te kao zamjena za glicerol. Male količine se mogu dodati u niskokalorične napitke da ublaže okus saharina. Tipični proizvodi koji ga sadrže su slastice, pastile, dijabetički džem i keksi, sladoled, čokolada i kolači.

Toksičnost sorbitola je revizirana od WHO. Sorbitol ima ADI vrijednost »ne specifičan« što znači da nije previđena nikakva štetnost po zdravlje (WHO, 1982.). Zbog spore apsorpcije pogodan je kao zaslađivač za dijabetičare jer omogućava ograničen unos kalorija. Velike količine mogu uzrokovati nadimanje, diareu i abdominalno nadimanje. Postupno povećanje doze sorbitola u dijete uzrokuje toleranciju (Salminen i sur., 1985.a,b).

U većini zemalja sorbitol je odobren kao sastojak ili aditiv hrane.

### **E. Manitol**

Manitol je heksitol stereoizomer sorbitola. Sastojak je nekih biljaka kao što je repa, celer, masline i morska trava. Manitol ima oko 0,4-0,5 slatkoće saharoze, a svojstva su mu slična sorbitolu. Jedino je topljivost manitola slabija u usporedbi sa sorbitolom. Manitol se proizvodi iz saharoze ili dekstroze i može se dobiti kao nusprodukt nekih fermentacija.

Manitol se koristi u dijetalnoj hrani bez šećera, gumama za žvakanje, slatkišima i sladoledu. Osim kao zaslađivač manitol se može koristiti kao poboljšivač teksture, protiv sljepljivanja ili kao serdstvo za vezanje vode. Glavna mu je primjena u proizvodnji guma za žvakanje.

Manitol se slabo apsorbira iz probavnog sustava i može uzrokovati diareu i nadutost. U eksperimentima sa životinjama primjećena je adaptacija na manitol (Salminen i sur., 1985.). Kod ljudi dolazi do laksativnog efekta nakon uzimanja 20-30 g manitola. Toksikološke studije ne pokazuju ni jedan štetni efekt manitola, osim diaree. Toksičnost manitola je revizirana od WHO. Manitol ima ADI vrijednost »ne specifičan« što znači da nije previđena nikakva štetnost po zdravlje (WHO, 1982.).

### ***Kriteriji za selekciju prebiotika i supstrata***

Usprkos dostupnosti najnovijih studija, teško je utvrditi pogodne supstrate i prebiotike koji će povećati broj bifidobakterija i laktobacila u probavnom sustavu ljudi. Bazirano na ranijim istraživanjima i iskustvu morali bi se poštivati sljedeći uvjeti (Salminen i sur., 1998.):

1. Slaba apsorpcija ili neapsorpcija prirodnih ili prirodno deriviranih sastojaka.
2. Da ih mnoge bakterije ne mogu reducirati.
3. Bifidobakterije mogu obično koristiti di- ili trisaharide koji sadrže galaktozu bez prethodne adaptacije.
4. Rast bifidobakterija i bakterija mliječne kiseline je poboljšán prisustvom fruktooligosaharida, laktuloze i laktitola.



5. Bifidobakterije mogu koristiti šećere koji sadrže galaktozu, glukozu i/ili fruktozu.
6. Bifidobakterije mogu koristiti derivate inulina.
7. Veće količine poliola mogu imati laksativno djelovanje.
8. Opadanje fekalnog pH je općenito poželjno svojstvo za svaki supstrat, a potiče rast bakterija probavnog sustava i uravnotežava zdravu mikroekologiju.
9. Poželjna je kombinacija supstrata koja istovremeno potiče rast laktobacila i bifidobakterija.
10. Poželjno je da prebiotički supstrat inhibitorno djeluju na aktivnost patogena i na virulenciju.
11. Prebiotičke komponente u dijeti moraju selektivno modificirati ljudsku mikrofloru debelog crijeva (takozvana hrana debelog crijeva) djelujući i na mikrofloru probavnog sustava i na metaboličke funkcije.

### ***Sigurnost prebiotika i supstrata***

Neškodljivost oligosaharida i supstrata za bakterije mliječne kiseline i bifidobakterije nije još dobro proučena unatoč činjenici da su mnogi od njih prirodni sastojci hrane u raznim dijetama. Toksikološki testovi za polirole su kompletirani (ksilitol, sorbitol, manitol i laktitol). Polioli su intenzivno testirani i podaci su procjenjeni od strane JECFA. Za njih su utvrđene ADI vrijednosti i E kodovi (E brojevi za prehrambene aditive od Europske Unije).

Za druge supstrate, uključivši oligosaharide, nije provedena intenzivna toksikološka studija. Pretpostavlja se da oni ne predstavljaju veliku opasnost jer su to prirodni spojevi ili su sastavljeni od prirodnih komponenata. Međutim, vrlo su različite odobrene količine od zemlje do zemlje jer ne postoji internacionalna toksikološka procjena.

Najsporije apsorbirajući šećeri uzrokuju prolazne intestinalne i abdominalne probleme. U slučaju poliola dolazi do postupne adaptacije na veće doze. Problemi koji se najčešće javljaju u konzumiranju velikih količina sporoapsorbirajućih šećera su abdominalni grčevi i bol, te nadimanje. Može se javiti i prolazna diarea. Usprkos tome mali je broj studija o nepoželjnim učincima šećera i oligosaharida. Tablica 3 prikazuje moguće loše posljedice.

Inulin i oligofruktoza su prirodno prisutni u mnogim vrstama uobičajene hrane, uključivši povrće i voće. U većini europskih zemalja su klasificirani kao prirodni sastojci hrane. Već je provedeno nekoliko nutritivnih studija s inulinom i oligofruktozom te je potvrđena njihova neškodljivost. Oligosaharidi bazirani na laktozi, prisutni su u humanom mlijeku i u fermentiranim mliječnim proizvodima kao laktoza hidrolizirani mliječni proizvodi. Radi svog prirodnog podrijetla već godinama se koriste u ljudskoj prehrani i ishrani životinja. Njihova prosječna preporučena potrošnja je nekoliko grama po danu.

Tablica 3: *Mogući loši efekti uzrokovani uzimanjem velikih količina poliola i derivata laktoze*

Table 3: *Potential side effects caused by consumption of larger amounts of polyols and lactose derivatives*

Zamjena šećera Sugar substitute	Kratkotrajna diareja Transient diarrhea	Nadimanje Fullness	Abdominalna bol Abdominal pain
Laktuloza Lactulose	+	+	+
Ksilitol <sup>a</sup> Xylitol <sup>a</sup>	+	+	+
Sorbitol <sup>a</sup> Sorbitol <sup>a</sup>	+	+	+
Laktitol <sup>a</sup> Lactitol <sup>a</sup>	+	+	+
Galaktooligosaharidi Galactooligosaccharides	+	+	+
Fruktooligosaharidi Fructooligosaccharides	?	+	+
Sojini oligosaharidi Soybean oligosaccharides	?	?	?

<sup>a</sup> Primjećena je postupna prilagodba na velike doze (kod ksilitola više od 150 g/dan)

<sup>a</sup> Gradual adaptation to larger doses (in case of xylitol up to 150 g/day) has been observed

Istraživanja koja su provedena da bi se procjenilo moguće toksično djelovanje oligofruktoze u ljudima i životinjama, nisu pokazala značajno štetno djelovanje. Nakon uzimanja velikih količina primjećene su blage posljedice, kao pojava nadutosti i mekane stolice. Pretjerana konzumacija neprobavljivih oligosaharida može uzrokovati stvarne poremećaje probavnog sustava kao na primjer: vjetrove, nadutost, kolike ili čak gubitak stolice kod velikih doza. Te su posljedice usporedive i kod veće konzumacije drugih dijetalnih vlakana. Količina prebiotika koja se konzumira u praksi (obično 2-3 g po serviranju ili kod poliola 2-20 g/danu tijekom nekoliko serviranja) je znatno ispod količine koja uzrokuje poremećaje probavnog sustava i/ili laksativne efekte. Jedna velika doza može dovesti do neželjenih efekata kao što je opisano u tablici 3.

## PREBIOTIC SUBSTRATES AND LACTIC ACID BACTERIA

### Summary

There is an increasing consumer demand for natural products, particularly in the area of food or food additives. This has created some possibilities for the use of slowly absorbable and nonabsorbable sugars as substrates for lactic acid bacteria and as prebiotics for human nutrition. The human colon contains a high concentration of bacteria ( $10^{12}$  per gram dry weight of colonic contents). Recent studies show that bifidobacteria and lactobacilli are among the common anaerobic bacteria in the human colonic microflora and may exert beneficial effects on the host. Dietary sugar source is the main factor affecting the multiplication of bifidobacteria in the human intestine. Consequently, the administration of nondigestible oligosaccharides such as raffinose, fructooligosaccharides, galactosylactose, isomaltooligosaccharides, or transgalactosyloligosaccharides causes an increase in the number of endogenous bifidobacteria and some changes in lactic acid bacteria. In this paper prebiotics and their characteristics were described as also criteria for selection and safety of prebiotics and substrates.

Key words: prebiotics, probiotics, lactic acid bacteria, bifidobacteria.

### Literatura

- Ballongue, J., Schumann, C., Quignon, P. (1997): «Effect of lactulose and lactitol on colonic microflora and enzymatic activity» *Scand. J. Gastroenterol.* 32 (222) 41-44.
- Bengmark, S. (1998): »Probiotic and Prebiotic in Prevention and Treatment of Gastrointestinal Diseases« *Gastroenterology International* 11 (1) 4-7.
- Benno, Y., Endo, K., Shiragami, N., Sayanama, K., Mitsuoka, T. (1987): »Effect of raffinose on human fecal microflora« *Bifidobacteria Microflora* 6, 59-63.
- Binder, H. J. (1998): »Mechanism of Colonic Short Chain Fatty Acid Absorption« *Gastroenterology International* 11 (1) 74-75.
- Bird, S. P., Hewitt, D., Ratcliffe, B., Gurr, M. I. (1990): »Effect of lactulose on protein digestion and metabolism in conventional and germ free animal models: relevance of their results to their use in the treatment of portosystemic encephalopathy« *Gut* 31, 1403-1406.
- Birkhed, D. (1994): »Cariologic aspects of xylitol and its use in chewing gum: a review« *Acta Odontologica Scandinavica* 52 (2), 116-127.
- Buddington, R. K., Williams, C. H., Chen, S. C., Witherly, S. W. (1990): »Dietary supplement of neosugar alters the fecal flora and decreases activities of some reductive enzymes in human subjects« *Am. J. Clin. Nutr.* 63.
- Burkitt, D. P. (1971): »Epidemiology of cancer of the colon and rectum« *Cancer* 28, 3-13.
- Coon, H. O. (1997): »A clinical hepatologist's view about non-absorbed carbohydrates for the early twenty-first century« *Scand. J. Gastroenterol.* 32 (222) 88-92.

- Edgar, W. M. (1998): »Sugar substitutes, chewing gum and dental caries - a review« *British Dental Journal*, 184 (1), 29-32.
- Felix, Y., Hudson, M., Owen, R., Ratcliffe, B., van Es, A., van Velthuisen, J., Hill, M. (1990): »Effect of dietary lactitol on the composition and metabolic activity of the intestinal microflora in the pig and humans« *Microbiol. Ecol. Health Dis.* 3, 259-267.
- Fiordaliso, M., Kok, N., Desager, J.-P., Goethals, F., Deboyser, D., Roberfroid, M., Delzenne, N. (1995): »Dietary oligofructose lowers triglycerides, phospholipids and cholesterol in serum and very low density lipoproteins of rats« *Lipids* 30, 163-167.
- Franck, A. (1995): »Raftiline: mehr als nur Fettersatz« *Lemensmittelindustrie und Milchwirtschaft* 21, 1038-1042.
- Franck, A. (1998): »Prebiotic stimulate calcium apsrption: a review« *Milchwissenschaft* 53 (8) 427-429.
- Fuller, R., ed. Probiotics. The Scientific Basis. Chapman and Hall, London, U.K., 1992.
- Giacosa, A. (1998): »ECP Consensus Cereals, Fiber and Colorectal Cancer« *Gastroenterology International* 11 (1) 66-68.
- Gibson, G. R., Beatty, E. R.; Wang, X., Cummings, J. H. (1995): »Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin«*Gastroenterology* 108, 975-982.
- Gibson, G. R., Roberfroid, M. (1995): »Dietary modulation of the human colonic microbiota-introducing the concept of prebiotics« *J. Nutr.* 125, 1401-1412.
- Goldin, B. R., Gorbach, S. L. (1998): »Prebiotic. A Review of their Effect on the intestinal Flora and Health Benefits« *Gastroenterology International* 11 (1) 1-3.
- Harju, M. (1988): »Lactitol as a substrate for  $\beta$ -galctosidases. Results and discusion« *Milchwissenschaft* 43, 148-152.
- Harju, M. (1990): »Lactobionic acid as a substrate for  $\beta$ -galctosidases« *Milchwissenschaft* 45, 411-415.
- Harju, M. (1991): »Lactose, its derivates and their hydrolysis« *Finnish J. Dairy Sci.* 49, 1-47.
- Havenaar, R. Spanhaak, S. (1992): "Selection of strains for probiotic use" U. "Probiotic - The Scientific basis" (Fuller, R. ed.) Chapman and Hall, London, 209-221.
- Hayakawa, K., Mitzutani, J., Wada, K., Masai, T., Yoshihara, I., Mitsuoka, T. (1990): »Effects of soybean oligosaccharides on human faecal flora« *Microbiol. Ecol. Health Dis.* 3, 293-303.
- Hidaka, H., Eida, T., Tazikawa, T., Tokunaga, T., Tashiro, Y. (1986): »Effect of fructooligosaccharides on intestinal flora and human health« *Bifidobacteria Microflora*, 5, 37-50.
- Hidaka, H., Hirayama, M., Tokunaga, T., Eida, T. (1990): »The effects of undigestible fructooligosaccharides on intestinal microflora and various physiological functions on human health« U: »New Developments in Dietary Fiber« (Furda, I., Brine, C. J., ured.), Plenum Press, New York, 105-117.
- Ito, M., Deguchi, Y., Miyamori, A., Matsumoto, K., Kikuchi, H., Matsumoto, K., Kobayashi, Y., Yajima, T., Kan, T. (1990): »Effect of administration of galactooligosaccharides on the human faecal microflora, stool weight and abdominal sensation« *Microbiol. Ecol. Health Dis.* 3, 285-292.
- Karlson, P. (1988): "Biokemija" Školska knjiga, Zagreb.

- Kashimura, J., Nakajima, Y., Benno, Y., Endo, K., Mitsuoka, T. (1989): »Effect of palatinose and its condensate intake on human fecal microflora« *Bifidobacteria Microflora* 8, 45-50.
- Kedel, baev B. Sh., Kvatbekov, A. M., Ashirov, A. M., Kerimbaeva, K. Z. (1997): »Xylitol from plant raw material« *Chemistry of Natural Compounds*, 33 (3), 458.
- Kleesen, B., Sykura, B., Zunft, H. J., Blaut, M. (1997): »Effect of inulin and lactose on fecal microflora, microbial activity, and bowel habit in elderly constipated persons« *Am. J. Clin. Nutr.* 69, 1397-1402.
- Kobayashi, Y., Echizen, R., Mada, M., Mutai, M. (1984): »Effect of hydrolysates of konjac mannan and soybean oligosaccharides on intestinal flora in man and rats« u »Intestinal Flora and Dietary Factors« (Mitsuoka, T., ured.) Japan Scientific Societies Press, Tokyo, 70-90.
- Kohomoto, T., Fukui, F., Takaku, H., Machita, Y., Arai, M., Mitsuoka, T. (1988): »Effect of isomaltitooligosaccharides on human fecal flora« *Bifidobacteria Microflora* 7, 61-69.
- Kok, N., Roberfroid, M., Robert, A., Delzenne, N.: »Involment of lipogenesis in the lower VLDL secretion induced by oligofructose in rats« *Br. J. Nutr.* (u tisku).
- Minami, Y., Kouhei, Y., Tamura, Z., Tanaka, T., Yamamoto, T. (1983): »Selectivity of Utilization of Galctosyl-oligosaccharides by Bifidobacteria« *Chem. Pharmac. Bull.* (Tokyo), 31, 1688-1691.
- Massillon, D., Chen, W., Barzila, N., Prus-Wertheimer, D., Hawkins, M., Liu, R., Taub, R., Rossetti, L. (1998): »Carbon flux via the pentose phosphate pathway regulates the hepatic expression of the glucose-6-phosphatase and phosphoenolpyruvate carboxykinase genes in conscious rats« *Journal of Biological Chemistry*, 273 (1), 228-234.
- Mattila, P. T., Knuutila, M. L., Svanberg, M. J. (1998): »Dietary xylitol supplementation prevents osteoporotic changes in streptozotocin - diabetic rats« *Metabolism: Clinical & Experimental*, 47 (5), 578-583.
- Mitsuhashi, Y., Yoshihama, M., Yahiro, M., Nishikawa, I., Deya, E., Ahiko, K., Mitsuoka, T. (1982): »Effect of oligosaccharides on intestinal flora and fecal characteristic of neonates « Proceedings of III IPRC Symposium on intestinal flora: Intestinal Flora and Nutrition, (T. Mitsuoka ured.), Japan Scientific Societis Press, Tokyo.
- Mitsuoka, T., Hidaka, H., Eida, T. (1987): »Effect of fruktooligosaccharides on intestinal microflora« *Die Nahrung* 31, 427.
- Naaber, P., Lehto, E., Salminen, S., Mikelsaar, M. (1996): »Inhibition of adhesion of Clostridium difficile to Caco-2 cells« *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 14, 205-209.
- Nagengast, F. M., Grubben, M. J. A. L., van Munster, I. P. (1995): »Role of bile acids in colorectal carcinogenesis« *Eur. J. Cancer* 31A, 1067-1070.
- Natah, S. S., Hussien, K. R., Tuominen, J. A., Koivisto, V. A. (1997): »Metabolic response to lactitol and xylitol in healthy men« *American Journal of Clinical Nutrition*, 65 (4), 947-950.
- Negri, E., La Vecchia, C. (1998): »Dietary Fiber and Colorectal Cancer Prevention. The Epidemiological Evidence« *Gastroenterology International* 11 (1) 56-57.
- Ohta, A., Ohhtsulsi, M., Baba, S., Adachi, T., Salsata, T., Salsaguchi, E. (1995): »Calcium and magnezium apbsorption from the colon and rectum are increased in rats fed fructooligosaccharides« *J. Nutr.* 125, 2417-2425.
- Ohtsuka, K., Benno, Y., Endo, K., Ueda, H., Ogawo, O., Uchida, T., Mitsuoka, T. (1989): »Effect of 4'-galaktosyllactose intake on human fecal microflora« *Bifidus* 2, 143-149.



- Okazaki, M., Fujikawa, S., Matsumoto, N. (1990): »Effect of xylooligosaccharide on the growth of bifidobacteria« *Bifidobacteria Microflora* 9, 77-86.
- Parekh, S. R., Margaritis, A. (1986): "Continuous hydrolysis of fructan in Jerusalem artichoke extracts using immobilized non-viable cells of *Kluveromyces marcianus*" *J. Food. Sci.* 51, 854.
- Patil, D.H., Westaby, D., Mahida, Y. R., Palmer, K. R., Rees, R., Clark, M. L. Dawson, A. M., Silk, D. B. A. (1987): "Comparative models of action of lactitol and lactulose in the treatment of hepatic encephalopathy" *Gut* 28, 255-259.
- Riccardi, G., Rivellesse, A. (1991): "Effects of dietary fibre and carbohydrate on glucose and lipoprotein metabolism in diabetic patients" *Diabetes Care* 14, 1115-1125.
- Riccardi, G. (1998): »Dietary Fiber in the Treatment of Diabetes« *Gastroenterology International* 11 (1) 127-129.
- Roberfroid, M. B., Van Loo, J. A. G., Gibson, G. R. (1998): "A review on the bifidogenic nature of chickory inulin and its hydrolysis products" *J. Nutr.* 128 (1), 11-19.
- Saito, Y., Iwanami, T., Rowland, I. (1992): "The effect of soybean oligosaccharides on the human gut microflora cultured in in vitro culture" Abstract of the Annual Meeting of intestinal Microecology, Helsinki, str. 9.
- Salminen, E., Salminen, S. (1986): "Lactulose and lactitol induced caecal enlargement and microflora changes in mice" Proc. Euro Food Tox II, Institute of Toxicology, ETH, Zurich, 313-317.
- Salminen, S., Salminen, E. (1997): "Lactulose, lactic acid bacteria, intestinal microecology and mucosal protection" *Scand. J. Gastroenterol.* 32 (222) 45-48.
- Salminen, S., Salminen, E., Bridges, J., Marks, V. (1985): "The effect of sorbitol on the gastrointestinal microflora in rats" *Z. Ernährungswiss.* 25, 91-95.
- Salminen, S., Salminen, E., Marks, V., Bridges, J., Koivistoinen, P. (1985): "Gut microflora interactions with xylitol in the rat, mouse and man" *Food Chem. Toxicol.* 23, 985-990.
- Salminen, S.; Roberfroid, M.; Ramos, P.; Fonden, R. (1998): "Prebiotic Substrates and Lactic Acid Bacteria" U: "Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects" Second Edition (S. Salminen, ured) Marcel Dekker Inc., New York.
- Svanberg, M., Mattila, P., Knuutila, M. (1997): "Dietary xylitol retards the ovariectomy - induced increase of bone turnover in rats" *Calcified Tissue International*, 60 (5), 462-466.
- Šušković, J., Kos, B., Matošić, S. (1998): "Probiotici: znanstvena činjenica ili pomodni trend?" *Mljekarstvo* 3, 153-164.
- Tanaka, R., Takayama, H., Morotomi, M., Kuroshima, T., Takayama, H., Matsumoto, K., Kuroda, A., Mutai, M. (1983): "Effect of administration of TOS and *Bifidobacterium breve* 4006 on the human fecal flora" *Bifidobacteria Microflora* 2, 17-24.
- Terada, A., Hara, H., Kataoka, M., Mitsuoka, T. (1992): "Effect of lactulose on the composition and metabolic activity of the human fecal flora" *Microb. Ecol. Health Dis.* 5, 43-50.
- Uhari, M., Kontiokari, T., Koskela, M., Niemela, M. (1996): "Xylitol chewing gum in prevention of acute otitis media: double blind randomised study" *Br. Med. J.* 313, 1180-1184.
- Van Loo, J., Oussement, P., De Leenheer, L., Hoebregs, H., Smits, G. (1995): "On the presence of inulin and oligofructose as natural ingredients in the Western diet" *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 35, 525-552.

- Vernia, P. (1998): "Clinical Application of Short-Chain Fatty Acids in Colonic Diseases" *Gastroenterology International 11* (1) 81-82.
- WHO. Toxicological evaluation of certain food additives. WHO Food Additives Series 1982.
- Weber, F. L. (1997): "Effects of lactulose on nitrogen metabolism" *Scand. J. Gastroenterol.* 32, (222) 83-87.
- Williams, C. H., Witherly, S. A., Buddington, R. K. (1994): "Influence of dietary neosugar on selected bacterial groups of the human faecal flora" *Microb. Ecol. Health Dis.* 7, 91-97.
- Yamazaki, H., Dilawri, N. (1990): "Measurement of growth of bifidobacteria on inulofructosaccharides" *Lett. Appl. Microb.* 10, 229-232.
- Yazawa, K. Imai, K., Tamura, Z. (1978): "Oligosaccharides and polysaccharides specifically utilizable by Bifidobacteria" *Chem. Pharmac. Bull.* (Tokyo), 26, 3306-3311.

**Adresa autora - Author's addresses:**

Mr. sc. Rajka Božanić  
Dr. sc. Ljubica Tratnik, izv. prof.  
Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Pierottijeva 6, 10000 Zagreb

**Primljeno - Received: 28. 01. 1999.**

**Prihvaćeno - Accepted: 31. 03. 1999.**