



CYTAL-ALACCTA 2019
Buenos Aires, 20 – 22 noviembre 2019

OPTIMIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE FRUCTANOS A PARTIR DE TUBÉRCULOS DE TOPINAMBUR

Díaz¹, Andrea; Dini¹, Cecilia; Viña¹, Sonia; García¹, María A.

¹ CIDCA (Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos), Facultad Ciencias Exactas UNLP – CONICET La Plata - CICPBA, 47 y 116 S/N°, La Plata (B1900AJJ), Buenos Aires, Argentina. andree.diaz@hotmail.com

RESUMEN

El topinambur (*Helianthus tuberosus*) es un cultivo herbáceo capaz de adaptarse a suelos pobres que almacena fructanos en sus tubérculos. El principal de ellos es la inulina, que comercialmente se obtiene de raíces de achicoria. El objetivo de este trabajo fue optimizar la extracción de fructanos a partir de topinambur. Se realizó una extracción acuosa a 90°C. Sobre alícuotas del extracto se ensayaron diferentes tratamientos: agregado de carbón activado y posterior filtrado (C*), agregado de agua oxigenada (AO), y desproteínización con hidróxido de calcio (D). Los extractos tratados se concentraron y los precipitados obtenidos se liofilizaron y caracterizaron. Asimismo, se ensayaron diferentes métodos de concentración del extracto (rotavapor y evaporación en platina calefactora), seguido de la precipitación mediante ciclos de congelación-descongelación (C-D), en comparación con la precipitación alcohólica (PA). Fue posible obtener fructanos a partir de tubérculos de topinambur, con un mayor rendimiento por precipitación alcohólica, y mayor pureza mediante ciclos de congelación-descongelación. El tratamiento con agua oxigenada es un procedimiento sencillo que permite aumentar el índice de blancura del producto obtenido y reducir el contenido de proteínas, sin modificar sus propiedades térmicas.

Palabras clave: topinambur, fructanos, proceso de extracción, purificación.

1. Introducción

En la actualidad, la demanda de alimentos nutricionalmente diferenciados por parte de los consumidores ha crecido notablemente debido, entre otras cosas, al aumento en la prevalencia de enfermedades crónicas vinculadas con la alimentación. Esta situación ha puesto en alerta al mercado que para satisfacer estos requerimientos ha planteado estrategias como la reducción de sal, grasas trans y azúcares, así como la incorporación de fibra dietaria, prebióticos y probióticos.

La inulina y los fructooligosacáridos (FOS) son polímeros constituidos por unidades de D-fructosa con uniones β (2→1) que pueden o no tener una unidad de D-

glucosa terminal mediante un enlace α (1 \rightarrow 2) (Sosa-Herrera & Delgado-Reyes, 2016). Son resistentes a la hidrólisis enzimática del tracto digestivo, y pueden aumentar efectivamente la cantidad de bacterias benéficas en el colon, comportándose como fibra prebiótica (Díaz et al., 2019). Además, el consumo de FOS e inulina conlleva un efecto hipoglucémico, siendo adecuado para personas diabéticas (Rao, 1999). Estos componentes han sido aceptados como ingredientes GRAS por la FDA desde 1992. Las inulinas comerciales son mezclas de oligo y polisacáridos de diferentes grados de polimerización (GP), extraídos principalmente de raíces de achicoria. La inulina a la cual le han sido removidos los monómeros de pequeño peso molecular es llamada inulina de alto rendimiento (HP, $GP \geq 23$), es utilizada en el reemplazo de grasas como agente texturizante. La oligofruktosa producida por hidrólisis parcial de la inulina está definida con $GP < 10$, tiene una mayor solubilidad en agua y mayor poder endulzante (Muñoz et al., 2012). Ambas fracciones se caracterizan por ser un polvo de color blanco y elevada pureza.

El topinambur (*Helianthus tuberosus*) es una especie herbácea de la familia *Asteraceae* nativa de Norteamérica, que almacena en sus tubérculos grandes cantidades de fructanos, principalmente inulina. Se han reportado grados de polimerización de: 28-33 (Mensink et al, 2015), mientras que Saengkanuk et al. (2011) informaron valores de 14.4-19.7, a partir de 11 variedades del cultivo. La variabilidad se debe a que la distribución del tamaño de fructanos depende de muchos factores, entre ellos, la especie, las condiciones de cultivo y el grado de madurez. Además de ser libre de gluten, posee una gran versatilidad para adaptarse a suelos poco nutritivos, lo que lo hace una fuente de alimento muy interesante para su estudio.

El objetivo de este trabajo fue optimizar el proceso de obtención de fructanos a partir de extractos acuosos de topinambur, ensayando diferentes métodos de concentración, precipitación y purificación.

2. Materiales y métodos

2.1 Material vegetal y elaboración de harina

Los tubérculos de topinambur de la variedad blanca fueron provistos por la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agropecuarias (FICA, UNSL) ubicada en Villa Mercedes, San Luis, Argentina. Una vez lavados fueron sanitizados con agua clorada (250 ppm) durante 10 minutos y cortados en rodajas de ~ 2 mm de espesor las que se secaron a 50°C en estufa con convección hasta peso constante. Una vez secas, las rodajas se molieron hasta obtener la harina (HT). Otro lote de tubérculos que habían

sido almacenados a -80°C , fueron descongelados y procesados de la misma forma (HTC: harina a partir de tubérculos congelados).

2.2. Obtención de extractos ricos en inulina y FOS

Se realizó una extracción acuosa sobre la harina HT a 90°C durante 40 min en platina con agitación (Li et al., 2015). La relación harina: agua destilada fue 1:8 (Rubel et al., 2014). El extracto obtenido se filtró en caliente, se dejó enfriar a temperatura ambiente y luego se centrifugó 10000 rpm, durante 20 min a 10°C . Los residuos de la filtración y centrifugación se secaron en estufa a 40°C con convección hasta peso constante, para luego ser usados en una segunda y tercera extracción. Con el fin de eliminar impurezas y obtener polvos más blancos, similares a la inulina comercial proveniente de raíces de achicoria, se ensayaron diferentes tratamientos sobre alícuotas del primer extracto de HT. Se ensayó el agregado de 1.5 gramos de carbón activado y posterior filtración (CA) (Abou-Arab et al., 2011), agregado de 4 ml de H_2O_2 al 100% v/v (AO) y un proceso de desproteinización (D) propuesto por Li et al. (2015). Luego los extractos fueron concentrados en rotavapor a 50°C hasta 25-30° Brix bajo una presión de 65-75 mmHg, se les agregó etanol y el precipitado obtenido fue liofilizado.

A partir de extractos HTC (obtenidos bajo las mismas condiciones que HT) se ensayaron diferentes formas de concentración y precipitación de los fructanos: rotavapor (R), evaporación (E) en platina calefactora y luego la obtención de precipitados mediante ciclos de congelación-descongelación (C-D), en comparación con la precipitación alcohólica (PA). Los precipitados obtenidos fueron liofilizados y almacenados al resguardo de la humedad.

2.3. Caracterización de los polvos

2.3.1. Color

Se determinó el color de todos los polvos obtenidos utilizando un colorímetro CR-400 (Konica Minolta Sensing Inc., Japón). Se registraron las coordenadas L^* , a^* , y b^* de la escala CIE. A partir de estos parámetros se calculó el índice de blancura (IB) (Vargas et al., 2008) utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{IB} = 100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{1/2} \quad (1)$$

2.3.2. Contenido de proteínas y de compuestos fenólicos

Con el objetivo de comprobar la eficiencia del tratamiento de desproteinización, se cuantificó el contenido de proteínas por el método de Kjeldahl (AOAC, 1990) utilizando el factor 6.25 para la conversión de nitrógeno a proteína total. Se determinó el

contenido de compuestos fenólicos de los polvos obtenidos mediante los diferentes tratamientos de purificación, para analizar si influyen en la coloración del producto final obtenido. Las muestras se extrajeron con Metanol: agua: HCl (80:19:1). El contenido de polifenoles totales se determinó mediante el método de Folin-Ciocalteu. Los resultados se expresaron como equivalentes de ácido gálico/100 gramos de muestra fresca (mg EAG/100g). Las determinaciones se realizaron por duplicado.

2.3.3. Contenido de inulina y grado de pureza

El contenido de inulina de las muestras sometidas a tratamientos de purificación, se determinó indirectamente según la siguiente ecuación (Saengkanuk et al., 2011).

$$I = k (F_{tot} - F_s - F_f) \quad (2)$$

donde I es el contenido de inulina, F_{tot} el contenido total de fructosa, F_s , la fructosa proveniente de la hidrólisis de la sacarosa y F_f la fructosa libre. Se aplica un factor de corrección, $k=0,995$ relacionado con la glucosa terminal de las cadenas de inulina, y la pérdida de agua durante la hidrólisis (Stegmans, Iliens, & Hoebregs, 2004).

Para determinar F_{tot} se procedió a la hidrólisis química de las muestras. Un volumen de 200 μ l de solución de polvo liofilizado en agua (100 mg/ml) fueron adicionados con 800 μ l de HCl 0.05 M y tratados 40 minutos en baño de agua a ebullición (Díaz et al., 2019). Tanto F_{tot} como F_f se determinaron por HPLC en un equipo Waters 1525 (Millipore Corp., Milford, MA, USA), con una columna XBridge Amide y una mezcla de acetonitrilo: H₂O 75:25 y 0.2% TEA (trietilamina) como fase móvil, a 1 ml/min. Se utilizó un detector de índice de refracción. Las determinaciones se realizaron por duplicado.

2.3.4. Determinación de peso molecular

Se utilizó un equipo HPLC Waters 1525 con una columna de filtración en gel OH-PAK SB-805HQ (SHODEX, Japón) un detector de índice de refracción (Piermaria et al., 2008) y agua desionizada como fase móvil. Como patrones se utilizaron dextranos con PM en el rango de 9.7×10^4 a 3.8×10^6 Da. La determinación se realizó por duplicado.

2.3.5. ATR-FTIR

Los espectros de los polvos se recolectaron en el rango de $4000-400 \text{ cm}^{-1}$ en un espectrómetro FTIR Thermo Nicolet iS10 con un accesorio ATR de diamante (Thermo Scientific, MA, EE. UU.). Los datos se analizaron utilizando el software OMNIC (versión 8.3, Thermo Scientific, MA, EE. UU.). Se registraron también los espectros de

dos inulinas comerciales de diferente grado de polimerización (GP): Beneo Orafti HP (GP \geq 23) y GR (GP \geq 10), y patrones de fructosa, glucosa y sacarosa. Se realizó un análisis comparativo utilizando el software, obteniendo un % de similitud con respecto a los espectros de los patrones utilizados. Se recolectaron 5 espectros de cada muestra.

2.3.6. Análisis térmico

La transición vítrea (T_g) de los productos obtenidos se determinó utilizando un calorímetro diferencial de barrido modelo Q100 (TA Instruments, EE.UU.). Se pesaron 6-7 mg de muestra seca y se sometieron a un programa de calentamiento desde -20 a 200°C, a una velocidad de barrido de 10°C/min bajo atmósfera de N₂ de 20 ml/min. Se realizó la modulación de la señal aplicando un período de 60 s con una amplitud de 0.5°C. Las muestras se analizaron al menos por duplicado.

2.4. Análisis estadístico

Los resultados obtenidos fueron sometidos al análisis de varianza (ANAVA) con un nivel de significación del 5% (p<0.05) seguido de un test de Fisher de comparación de medias (p<0.05), utilizando el programa Infostat versión 2012 (Di Rienzo et al., 2012).

3. Resultados y discusión

3.1. Rendimientos de extracción

Los rendimientos obtenidos para la primera, segunda y tercera extracción de fructanos a partir de HT fueron de 32.9, 9.1 y 3.3%, respectivamente; esto indicaría que dos extracciones serían suficientes para obtener la mayor cantidad de estos compuestos. Por otro lado, los resultados obtenidos para los diferentes tipos de extracción a partir de HTC fueron: 13.4% (EPA), 4.5% (EC-D), 14.7% (RPA) y 2.5% (RC-D). Independientemente del método utilizado para la concentración del extracto, PA como método de precipitación arroja rendimientos 4 veces mayores que C-D, por lo que sería el procedimiento más eficiente.

3.2. Caracterización de los productos obtenidos mediante diferentes métodos de extracción.

Los espectros de los productos enriquecidos en fructanos obtenidos a través de diferentes métodos a partir del extracto de topinambur, presentaron una banda amplia con un pico máximo entre 3260-3300 cm⁻¹ correspondiente al estiramiento de los grupos OH, y otro pico en 2930 cm⁻¹ que se asigna a las vibraciones de los enlaces C-H (Panchev et al., 2011). En la Figura 1 se muestra la región en la que las muestras presentaron variaciones, comprendida entre 1700-750 cm⁻¹. Los fructanos de

topinambur presentaron un pico a 1590 cm^{-1} , que en las inulinas comerciales proveniente de achicoria se encuentra menos pronunciado a 1650 cm^{-1} .

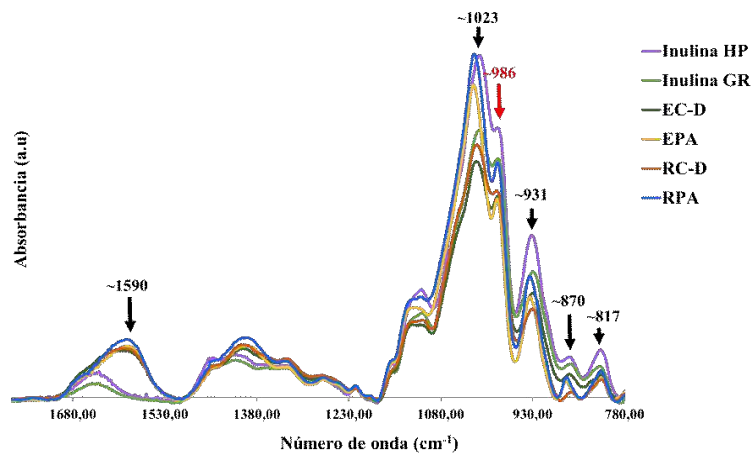


Figura 1. Espectros FTIR de los productos obtenidos con diferentes procedimientos de concentración y precipitación y de las inulinas comerciales utilizadas como control.

Se observa un pico entre $930\text{-}934\text{ cm}^{-1}$ asignado al residuo $\alpha\text{-D-Glcp}$ en la cadena de carbohidratos que junto con las bandas a 874 y 817 cm^{-1} confirmarían la presencia de 2-cetofuranosa (Barkhatova et al., 2015).

Las fracciones obtenidas por precipitación mediante ciclos de congelación-descongelación presentan la banda entre $985\text{-}987\text{ cm}^{-1}$ más atenuada, al igual que las inulinas de achicoria comerciales, independientemente del método de concentración utilizado. Estas fracciones también presentaron un porcentaje de similitud más alto (Tabla 1), que los obtenidos por precipitación alcohólica, con las inulinas comerciales y los azúcares analizados, lo que podría indicar una mayor pureza en estos compuestos.

En la Tabla 1 se presentan los valores de índice de blancura obtenidos para los productos de precipitación. Independientemente del método de concentración, la precipitación alcohólica permite obtener un IB más alto que la precipitación por ciclos de congelación. A pesar de esto no se llega al valor de IB de las inulinas comerciales. Esto podría atribuirse a que por su forma irregular los tubérculos fueron procesados con su piel (IB superficial de 55.9), además de los productos de pardeamiento químico, enzimático y de caramelización que se producen durante la obtención de la harina y posterior extracción a alta temperatura. Los parámetros de color obtenidos para la harina de partida (HTC) fueron: 61.8 ± 1.7 (L^*), 3.3 ± 0.2 (a^*), 14.9 ± 0.9 (b^*) y 59.2 ± 1.8 (IB).

Tabla 1. Porcentajes de similitud de los productos obtenidos con respecto a las inulinas comerciales, fructosa, glucosa y sacarosa. Índice de blancura.

Similitud (%) Región 1200-744						
	Fructosa	Glucosa	Sacarosa	Inulina GR	Inulina HP	IB
RC-D	10.4	17.1	25.3	97.8	94.9	64.2±1.1 ^b
RPA	6.5	10.1	17.8	91.2	89.2	67.3±1.1 ^c
EC-D	10.6	14.3	25.2	97.5	94.2	61.5±0.9 ^a
EPA	6.1	8.0	18.0	87.6	85.0	66.9±1.4 ^c
Inulina GR	***	***	***	***	***	97.5±0.3

Los valores informados corresponden a las medias \pm la desviación estándar. Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Diferentes métodos de concentración de extracto: R (rotavapor) y E (evaporación). Diferentes tipos de precipitación: PA (Precipitación alcohólica) y C-D (ciclos de congelación-descongelación)

3.3. Caracterización de los productos obtenidos mediante diferentes tratamientos de decoloración.

Debido a que una de las diferencias encontradas previamente entre las fuentes de obtención de los fructanos (radicha y topinambur) es el contenido de proteínas, se ensayó un protocolo de eliminación de las mismas que consiste en su precipitación por el agregado de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ hasta $\text{pH} = 11$, seguido del agregado de H_3PO_4 hasta $\text{pH} = 8$ con el objetivo de neutralizar el exceso de $\text{Ca}(\text{OH})_2$.

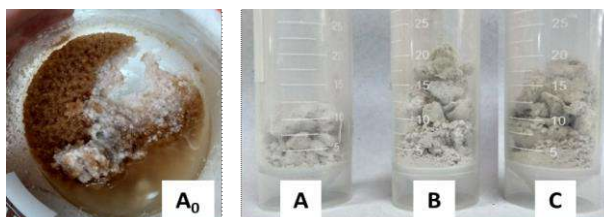


Figura 2. Productos obtenidos a partir de HT con diferentes tratamientos de decoloración. A₀: AO (agua oxigenada), B: C* (carbón activado) y C: control (sin tratamiento).

A fin de minimizar las diferencias de color entre el producto enriquecido en fructanos obtenido de topinambur y las inulinas comerciales provenientes de raíces de achicoria, se ensayaron dos tratamientos de decoloración: uno químico (agregado de agua oxigenada) y otro físico (adsorción de impurezas con carbón activado).

El contenido de proteínas de la muestra D ($4.37 \pm 0.19\%$ b.h) fue significativamente menor que el del control ($5.76 \pm 0.15\%$ b.h) y C* ($5.65 \pm 0.05\%$ b.h), pero no así con respecto a AO ($4.49 \pm 0.22\%$ b.h), lo que indica la baja efectividad del primer tratamiento (Figura 2). Por este motivo, la muestra D se excluyó de los siguientes ensayos.

En la Tabla 2 se muestran los resultados obtenidos para el color de y el contenido de compuestos fenólicos de los polvos. Los parámetros de color obtenidos para la harina de partida (HT) fueron: 85.4 ± 0.5 (L*), 0.59 ± 0.06 (a*), 10.0 ± 0.2 (b*) y

82.3±0.5 (IB), lo generó valores de IB más elevados para todas las muestras. El IB fue significativamente mayor para AO, lo que se corresponde con lo observado en la Figura 2, mientras que para el control y C* resultaron similares. El contenido de compuestos fenólicos (122-124 mg EAG/100g) fue similar en todas las muestras, lo que indicaría que la diferencia en los parámetros de color no se debería a una disminución de estos compuestos en AO, sino que podría estar relacionada con el contenido de proteínas.

Tabla 2. Parámetros de color y contenido de compuestos fenólicos de los polvos.

	L*	a*	b*	IB	mg EAG/100 g
Control	81.8±0.5 ^a	0.88±0.08 ^c	14.2±0.3 ^c	76.8±0.5 ^a	124.2±0.9 ^a
CA	80.8±1.1 ^a	0.71±0.09 ^b	12.8±0.1 ^b	76.1±0.9 ^a	122.0±1.2 ^a
AO	87.0±1.5 ^b	0.3±0.1 ^a	10.7±0.5 ^a	83.1±1.3 ^b	122.1±0.8 ^a

Los valores informados corresponden a las medias ± la desviación estándar. Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Los espectros FTIR obtenidos presentaron los picos característicos de los fructanos, previamente detallados, y un alto % de similitud con las inulinas comerciales (Tabla 3), esto confirma la presencia de estos compuestos en los productos obtenidos. Mediante la determinación por HPLC de los azúcares libres y posterior a la hidrólisis ácida, se calculó el contenido aproximado de inulina, estimándose el grado de pureza de los productos. Los valores encontrados fueron: 75.4±1.3% para el control, 75.0±0.2% para el producto tratado con agua oxigenada y 82.3±1.0% para el tratado con C*.

Tabla 3. Porcentajes de similitud de los productos obtenidos con respecto a las inulinas comerciales, fructosa, glucosa y sacarosa.

Muestra	Similitud (%) Región 1200-744				
	Fructosa	Glucosa	Sacarosa	Inulina GR	Inulina HP
Control	6	9.7	20	93.3	90.5
H₂O₂	5.9	6.2	19.7	91.1	88.8
C*	4.7	6.5	22.9	87.1	90.1

CA: tratamiento del extracto con carbón activado. AO: tratamiento del extracto con agua oxigenada.

En cuanto a las propiedades térmicas, la muestra control presentó dos Tg a 50.2±0.6°C y 87.3±4.8°C mientras que para AO estas se observaron a: 44.21±1.9°C y 107.98±6.9°C. La aparición de más de una transición vítrea da indicios de que lo que se obtienen son mezclas de fructanos; resultados similares fueron informados por Panchev et al. (2011). Esto se corresponde con los resultados obtenidos mediante exclusión molecular (Figura 3) donde se observa que hay una fracción de alto peso molecular ($> 4 \times 10^6$ Da), y otra fracción menor. Esta última corresponde al pico de mayor señal en el

cromatograma que no presenta diferencias significativas entre las muestras analizadas, siendo 7129 ± 332 Da para el control, 7244 ± 169 Da para CA y 7736 ± 182 Da para AO.

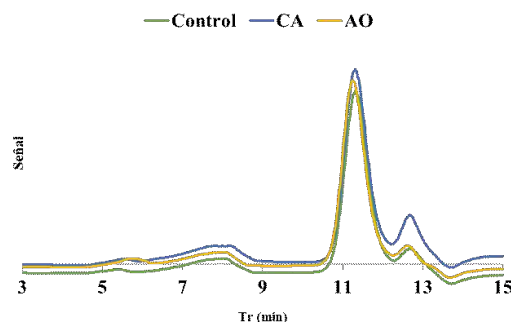


Figura 3. Fracciones de diferente PM obtenidas a través de HPLC. AO (agua oxigenada), C* (carbón activado) y control (sin tratamiento).

4. Conclusión

Es posible obtener productos enriquecidos en fructanos mediante la concentración y precipitación de extractos de topinambur. La precipitación alcohólica permite mayores rendimientos que los ciclos de congelación, y el agregado previo de agua oxigenada al extracto, representa una alternativa para la obtención de productos más blancos. Este tratamiento no modifica en gran medida las propiedades térmicas de los productos obtenidos, su grado de polimerización y pureza. Los espectros de FTIR de los productos enriquecidos mostraron un alto grado de similitud con las inulinas comerciales. Los productos ricos en inulina y FOS aquí obtenidos podrían representar una alternativa interesante como ingredientes de alto valor nutricional, siendo necesario evaluar su funcionalidad en la matriz alimentaria a la que se incorporen.

5. Agradecimientos

Este trabajo fue financiado con los proyectos PICT-2015-0921 y PICT-2015-3249 (ANPCyT) y PIP0555 (CONICET).

6. Bibliografía

- Abou-Arab, A. A., Talaat, H. A., & Abu-Salem, F. M. (2011). Physico-chemical Properties of Inulin Produced from Jerusalem Artichoke Tubers on Bench and Pilot Plant Scale. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5(5), 1297–1309.
- AOAC. (1990). *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists* (15th ed. / edited by Kenneth Helrich. ed.). Arlington, Va.: Association of Official Analytical Chemists.
- Barkhatova, T. V., Nazarenko, M. N., Kozhukhova, M. A., & Khripko, I. A. (2015). Obtaining and identification of inulin from jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) tubers. *Foods and Raw Materials*, 3(2), 13–22. <https://doi.org/10.12737/13115>
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M., & Robledo, C. W. (2011). InfoStat. [programa de cómputo].
- Díaz, A., Bomben, R., Dini, C., Viña, S. Z., García, M. A., Ponzi, M., & Comelli, N. (2019). Jerusalem artichoke

- tuber flour as a wheat flour substitute for biscuit elaboration. *LWT*, *108*, 361–369. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2019.03.082>
- Li, W., Zhang, J., Yu, C., Li, Q., Dong, F., Wang, G., ... Guo, Z. (2015). Extraction, degree of polymerization determination and prebiotic effect evaluation of inulin from Jerusalem artichoke. *Carbohydrate Polymers*. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.12.055>
- Mensink, M. A., Frijlink, H. W., Van Der Voort Maarschalk, K., & Hinrichs, W. L. J. (2015). Inulin, a flexible oligosaccharide I: Review of its physicochemical characteristics. *Carbohydrate Polymers*, *130*, 405–419. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.05.026>
- Muñoz, S., Restrepo, D., & Sepúlveda, J. (2012). Revisión: Inulina en Algunos Derivados Cárnicos. *Revista Facultad de Agronomía, Medellín*, *65*(2), 1–10. <https://doi.org/0304-2847>
- Panchev, I., Delchev, N., Kovacheva, D., & Slavov, A. (2011). Physicochemical characteristics of inulins obtained from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). 889–896. <https://doi.org/10.1007/s00217-011-1584-8>
- Piermaria, J. A., De, M. L., & Abraham, G. (2008). ARTICLE IN PRESS Gelling properties of kefiran, a food-grade polysaccharide obtained from kefir grain. *22*, 1520–1527. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.10.005>
- Rao, A. V. (1999). Nutritional and Health Benefits of Inulin and Oligofructose Dose-Response Effects of Inulin and Oligofructose on Intestinal Bifidogenesis Effects I. *J. Nutr* (Vol. 129). Retrieved from <https://academic.oup.com/jn/article-abstract/129/7/1442S/4722587>
- Rubel, I. A., Pérez, E. E., Genovese, D. B., & Manrique, G. D. (2014). In vitro prebiotic activity of inulin-rich carbohydrates extracted from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers at different storage times by *Lactobacillus paracasei*. *Food Research International*. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.02.024>
- Saengkanuk, A., Nuchadomrong, S., Jogloy, S., Patanothai, A., & Srijaranai, S. (2011). A simplified spectrophotometric method for the determination of inulin in Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers. *European Food Research and Technology*. <https://doi.org/10.1007/s00217-011-1552-3>
- Sosa-Herrera, M. G., & Delgado-Reyes, V. A. (2016). Propiedades funcionales y aplicaciones tecnológicas de fructanos. *Alimentos Funcionales de Hoy*, 97–115. <https://doi.org/10.3926/oms.357>
- Steegmans, M., Iliens, S., & Hoebregs, H. (2004). Enzymatic, Spectrophotometric Determination of Glucose, Fructose, Sucrose, and Inulin/Oligofructose in Foods. *FOOD COMPOSITION AND ADDITIVES*, *87*(5), 1200–1207. Retrieved from <https://pdfs.semanticscholar.org/e42a/4e07d5c3095807e2453c025d95e0f05eb6da.pdf>
- Vargas, M., Cháfer, M., Albors, A., Chiralt, A., & González-Martínez, C. (2008). Physicochemical and sensory characteristics of yoghurt produced from mixtures of cows' and goats' milk. *International Dairy Journal*, *18*(12).