



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

**Evaluación de la inclusión de
oligosacáridos de avena y
Lactobacillus casei subsp.
ramnosus como probiótico en
quesos frescos**

Andrés Felipe Marín Martínez

Universidad Nacional de Colombia
Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos
Bogotá D.C., Colombia

2019

Evaluación de la inclusión de oligosacáridos de avena y *Lactobacillus casei* subsp. *ramnosus* como probiótico en quesos frescos

Andrés Felipe Marín Martínez

Tesis de investigación presentada como requisito parcial para optar al título de:
Magister en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Director:

PhD. M.Sc. Ing. Químico. Luis Felipe Gutiérrez Álvarez

Codirector(a):

PhD. M.Sc Alma Elizabeth Cruz Guerrero

Universidad Autónoma Metropolitana- Unidad Iztapalapa, México

Línea de investigación:

Procesamiento de alimentos

Universidad Nacional de Colombia
Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos
Bogotá D.C., Colombia

2019

A Dios por darme lo necesario para perseguir mis sueños.

A mi madre que nunca abandona y siempre cree en mí.

A Santiago por su apoyo e incondicionalidad.

A mi familia y amigos por las grandes y pequeñas enseñanzas.

Agradecimientos

A Dios y la vida por permitirme estar aquí y ahora culminando mis estudios de maestría, a pesar de las adversidades que hacen parte de cualquier camino gratificante.

A cada una de las personas que durante estos años de altos y bajos se cruzaron en mi vida y aportaron su conocimiento, apoyo y energía para la culminación de este trabajo.

A México, especialmente la Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa, por abrirme las puertas a un mundo de experiencias maravillosas que reposarán en mi memoria para siempre.

A la Doctora Alma Elizabeth Cruz Guerrero por brindarme la confianza de desarrollar este trabajo de investigación bajo su tutoría, y en las instalaciones de la Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa. Por contribuir con su conocimiento, experiencia y calidad humana a mi formación profesional y personal.

A mi director el Doctor Luis Felipe Gutiérrez Álvarez por su apoyo, su aporte de conocimiento, su guía y su disposición en el desarrollo de la tesis.

A los profesores y funcionarios del ICTA, y a los compañeros de la Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos por permitirme aprender tanto de ustedes, por sus palabras de aliento, por lo vivido.

A mi familia y amigos por ser la fuerza que impulsa mi vida, por su incondicionalidad y su capacidad incomparable de inspirarme a ser mejor.

Resumen

Esta investigación tuvo como objetivo la evaluación de la inclusión de oligosacáridos de avena en la formulación de quesos frescos. Para ello, se evaluó la extracción de estos compuestos por dos métodos, uno convencional (extracción acuosa en caliente), y otro con aplicación de ultrasonido bajo diferentes condiciones de tiempo (15 y 30 minutos) y temperatura (20 °C, 55 °C y sin control de temperatura). La aplicación de ultrasonido durante 30 minutos a 55 °C presentó el mayor rendimiento de extracción ($4.29 \pm 0.70\%$), mientras el método convencional obtuvo el menor rendimiento ($1.64 \pm 0.17\%$). Por el contrario, el extracto obtenido con el método convencional presentó el mayor contenido de azúcares totales ($80.83 \pm 8.27\%$). Una vez extraídos los β -glucanos, se evaluó su inclusión en concentraciones de 0.25, 0.50 y 0.75% en un queso fresco tipo cuajada. Con la adición al 0.25% se presentó un mayor rendimiento quesero asociado a un mayor contenido de humedad, así como una mayor retención de oligosacáridos en la cuajada ($56.56 \pm 8.83\%$). Con las dos mayores concentraciones (0.50 y 0.75%) de oligosacáridos, se evidenció la incompatibilidad de los β -glucanos con las caseínas, lo que afectó tanto la coagulación de la leche como las propiedades fisicoquímicas de las cuajadas. Por último, se evaluó la adición de oligosacáridos (0 y 0.25%), y la inclusión de *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* en un queso fresco tipo panela durante el almacenamiento (días 1, 7, 14 y 21) a 4 °C. La viabilidad del probiótico en ambos quesos estuvo por encima de 10^6 UFC/g de queso durante todo el almacenamiento, lo cual hace al queso tipo panela un buen alimento para la provisión de estos microorganismos benéficos para el ser humano. Finalmente, se garantizó una estabilidad de por lo menos 21 días de los quesos refrigerados a 4 °C y empacados al vacío.

Palabras clave: Avena, β -glucanos, quesos frescos, cuajada, queso panela, probióticos.

Abstract

The aim of this study was to evaluate the inclusion of oat oligosaccharides in the formulation of fresh cheeses. In the first instance, two extraction methods of these compounds were evaluated. The first one was a conventional method (hot aqueous extraction), and the second one was an ultrasound assisted extraction method, under different time (15 and 30 minutes) and temperature (20 °C, 55 °C and uncontrolled temperature) conditions. The application of ultrasound for 30 minutes at 55 °C displayed the highest extraction yield ($4.29 \pm 0.70\%$), whereas conventional method displayed the lowest ($1.64 \pm 0.17\%$). Conversely, the conventional method presented the greatest total sugars content in its extract ($80.83 \pm 8.27\%$). Once β -glucans were obtained, its inclusion at concentrations of 0.25, 0.50 y 0.75% in cuajada-type fresh cheese was evaluated. The addition of 0.25% of oligosaccharides displayed higher cuajada-type cheese yield associated with an increase in moisture content, as well as higher oligosaccharides retention in the cheese. The other two concentrations (0.50 and 0.75%) showed an evident thermodynamic incompatibility between these oligosaccharides and caseins, which affected milk coagulation, and the physicochemical properties of cuajada-type fresh cheeses. Finally, the addition of oligosaccharides at 0 and 0.25%, and the inclusion of *Lactobacillus casei* subsp. *ramnosus* were evaluated in panela-type fresh cheese during storage at 4 °C (1, 7, 14 and 21 days). Viability of probiotic in both cheeses was above 10^6 CFU/g of cheese during storage, which supports the idea of panela-type cheese as a suitable vehicle for probiotics release. Additionally, stability of both cheeses under storage conditions of 4 °C and vacuum packaging were guaranteed for 21 days at least.

Keywords: Oat, β -glucans, fresh cheeses, cuajada-type cheese, panela-type cheese, probiotics.

Contenido

	Pág.
Resumen	VII
Abstract	VIII
Lista de figuras	XI
Lista de tablas	XII
Lista de ilustraciones	XIV
Introducción	1
1. Marco conceptual	5
1.1 Fibra dietaria: definición, componentes y efectos fisiológicos	5
1.1.1 Beneficios fisiológicos de la fibra dietaria	8
1.2 Prebióticos.....	10
1.3 La avena como fuente de oligosacáridos con potencial prebiótico.....	12
1.4 β -glucanos: definición, rol en la salud y métodos de extracción	12
1.4.1 β -glucanos: Efectos en la salud y prevención de enfermedades	14
1.4.2 Extracción de β -glucanos de la avena.....	14
1.5 Probióticos.....	17
1.5.1 <i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>ramnosus</i> como probiótico en la industria de alimentos.....	18
1.6 Queso.....	19
1.6.1 Queso fresco.....	19
2. Objetivos	23
2.1 Objetivo general.....	23
2.2 Objetivos específicos	23
3. Materiales y métodos	25
3.1 Materiales	25
3.2 Equipos	25
3.3 Métodos.....	26
3.3.1 Extracción de oligosacáridos de avena por método convencional	26
3.3.2 Extracción de oligosacáridos de avena por método asistido por ultrasonido.....	27
3.3.3 Cuantificación de azúcares totales	28
3.3.4 Cuantificación de proteína.....	29
3.3.5 Elaboración de las cuajadas.....	30
3.3.6 Análisis fisicoquímicos	32
3.3.7 Cuantificación de oligosacáridos retenidos en la cuajada.....	34

3.3.8	Color.....	35
3.3.9	Análisis de perfil de textura.....	35
3.3.10	Análisis de estabilidad en almacenamiento.....	36
3.3.11	Análisis fisicoquímico en almacenamiento.....	39
3.3.12	Análisis microbiológico.....	39
3.3.13	Viabilidad del probiótico.....	41
3.3.14	Análisis sensorial instrumental.....	41
3.4	Diseño experimental y análisis estadístico.....	42
4.	Resultados y discusión.....	43
4.1	Extracción de oligosacáridos de avena.....	43
4.1.1	Rendimiento de extracción.....	43
4.1.2	Contenido de azúcares totales de los extractos.....	44
4.1.3	Contenido de proteína de los extractos.....	46
4.2	Elaboración de queso fresco tipo cuajada.....	47
4.3	Análisis fisicoquímicos.....	50
4.3.1	Contenido de humedad.....	50
4.3.2	Contenidos de grasa, proteínas y cenizas.....	51
4.3.3	pH.....	53
4.3.4	Acidez titulable.....	54
4.4	Análisis de perfil de textura.....	55
4.5	Color.....	57
4.6	Concentración de oligosacáridos en la cuajada.....	58
4.7	Análisis de estabilidad en almacenamiento de queso panela.....	60
4.7.1	pH.....	60
4.7.2	Viabilidad del probiótico.....	61
4.7.3	Análisis microbiológicos.....	63
4.7.4	Análisis de perfil de textura.....	64
4.7.5	Color.....	66
4.7.6	Pérdida de peso.....	67
5.	Conclusiones y recomendaciones.....	69
5.1	Conclusiones.....	69
5.2	Recomendaciones.....	70
	Bibliografía.....	71

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1-1: Estructura de los β -glucanos con enlaces glucosídicos β -(1 \rightarrow 3) y β -(1 \rightarrow 6). 13	13
Figura 1-2: Estructura de los β -glucanos con enlaces glucosídicos β -(1 \rightarrow 3) y β -(\rightarrow 4). .. 13	13
Figura 1-3: Proceso de elaboración del queso fresco: panela, campesino, cuajada. 20	20
Figura 3-1: Curva de calibración de glucosa para la cuantificación de azúcares totales a una longitud de onda de 490 nm. 29	29
Figura 3-2: Curva patrón de seroalbúmina bovina para la cuantificación de proteína por Método de Bradford a una longitud de onda de 595 nm. 30	30
Figura 3-3: Flujo de proceso de elaboración de las formulaciones de cuajada. 31	31
Figura 3-4: Curva patrón de inulina para cuantificación de oligosacáridos de avena. 35	35
Figura 3-5: Proceso de elaboración de quesos panelas para el análisis de estabilidad en almacenamiento. 37	37
Figura 3-6: Análisis de estabilidad en almacenamiento de los quesos panelas. 38	38
Figura 4-1: Rendimientos de las cuajadas con diferentes niveles de inclusión de oligosacáridos de avena. 49	49
Figura 4-2: pH de cuajadas con diferentes niveles de inclusión de oligosacáridos de avena. 53	53
Figura 4-3: pH durante el almacenamiento de queso panela con probiótico y queso panela con oligosacáridos de avena (0.25%) y probiótico. 61	61
Figura 4-4: Viabilidad del probiótico <i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>ramnosus</i> (Log UFC/g) durante su almacenamiento adicionado en quesos panelas con 0 y 0.25% de inclusión de oligosacáridos de avena. 62	62

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1-1: Principales componentes de la fibra dietaria.	5
Tabla 1-2: Efectos fisiológicos de la fibra dietaria en la salud humana.	8
Tabla 1-3: Beneficios para la salud y los alimentos del probiótico <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	18
Tabla 1-4: Composición fisicoquímica en base húmeda de quesos frescos: queso panela, queso campesino y cuajada.	21
Tabla 1-5: Requisitos fisicoquímicos para el queso.	21
Tabla 3-1: Métodos de extracción de oligosacáridos de avena evaluados.	28
Tabla 3-2: Quesos panelas evaluados en su estabilidad en almacenamiento.	36
Tabla 3-3: Requisitos microbiológicos para queso fresco.	40
Tabla 4-1: Rendimientos de extracción de oligosacáridos de avena en función del método de obtención.	44
Tabla 4-2: Contenido de azúcares totales en extractos de oligosacáridos de avena obtenidos por diferentes métodos de extracción.	45
Tabla 4-3: Contenido de proteína de extractos de oligosacáridos de avena obtenidos por diferentes métodos de extracción.	46
Tabla 4-4: Humedad de cuajadas con diferentes niveles de inclusión de oligosacáridos de avena.	51
Tabla 4-5: Análisis fisicoquímicos de cuajadas con diferentes niveles de inclusión de oligosacáridos de avena.	52
Tabla 4-6: Acidez de cuajadas con diferentes niveles de inclusión de oligosacáridos de avena.	54
Tabla 4-7: Propiedades texturales de cuajadas con diferentes niveles de inclusión de oligosacáridos de avena.	55
Tabla 4-8: Coordenadas de color L*, a* y b* de las cuajadas con diferentes niveles de inclusión de oligosacáridos de avena.	57
Tabla 4-9: Concentración y retención de oligosacáridos en quesos frescos tipos tipo cuajada con diferentes niveles de inclusión de oligosacáridos de avena.	59
Tabla 4-10: Análisis microbiológicos durante el almacenamiento de queso panela con probiótico y queso panela con oligosacáridos de avena (0.25%) y probiótico.	63
Tabla 4-11: Análisis de perfil de textura durante el almacenamiento de queso panela con probiótico y queso panela con oligosacáridos de avena (0.25%) y probiótico.	65

Tabla 4-12: Coordenadas de color L*, a* y b* durante el almacenamiento de queso panela con probiótico y queso panela con oligosacáridos de avena (0.25%) y probiótico.	67
Tabla 4-13: Pérdida de peso (%) durante el almacenamiento de queso panela con probiótico y queso panela con oligosacáridos de avena (0.25%) y probiótico.....	67

Lista de ilustraciones

	Pág.
Ilustración 3-1: A) Agitación y calentamiento de la suspensión de avena en agua durante la extracción por el método convencional. B) Precipitación de los oligosacáridos de avena en etanol.	26
Ilustración 3-2: A) Aplicación del ultrasonido a la suspensión de harina de avena en agua. B) Pellets obtenidos de la extracción antes del secado.....	27
Ilustración 3-3: Análisis de perfil de textura (TPA) de los quesos.	36
Ilustración 3-4: Empacado al vacío de los quesos panelas para análisis de estabilidad en almacenamiento.....	38
Ilustración 4-1: Separación de fases de leche adicionada con 1% (p/v) de oligosacáridos de avena.....	48
Ilustración 4-2: Aspecto de la formación de la cuajada. A) Cuajada sin adición de oligosacáridos de avena. B) Cuajada con adición de oligosacáridos de avena al 0.25%. C) Cuajada con adición de oligosacáridos de avena al 0.50%. D) Cuajada con adición de oligosacáridos de avena al 0.75%.....	48

Introducción

En el intestino humano coexisten más de 100 trillones de bacterias dentro de las que se encuentran géneros como *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Clostridium*, y cepas de *Escherichia coli*. Esta diversidad en la microbiota intestinal suele sufrir cambios a través de la vida del individuo hospedero como consecuencia de múltiples factores tanto internos como externos (Antza et al., 2018). Un posible desbalance en la proporción o distribución de dichas poblaciones puede conducir a la presentación o progreso de enfermedades metabólicas tales como obesidad, diabetes tipo II y/o enfermedades cardiovasculares (Dong et al., 2017). Lo anterior representa un problema de salud pública si se tiene en cuenta que para el año 2016 alrededor de 700 millones de personas en el mundo padecían obesidad, y solo en América Latina el porcentaje de prevalencia de la diabetes mellitus era del 9,4% (Asociación Latinoamericana de Diabetes, 2017).

Actualmente, debido a una mayor conciencia por parte del consumidor frente a su salud y su nutrición, la demanda de alimentos que contribuyan a mejorarlas sigue en aumento. En este sentido, los probióticos como microorganismos no patógenos y con beneficios para la salud humana han sido ampliamente estudiados durante las últimas dos décadas en términos de selección y caracterización de cultivos específicos y sus potenciales usos. Sin embargo, el desarrollo de nuevos alimentos que contengan probióticos se enfrenta, entre varios retos, a la necesidad de mejorar la viabilidad de estos microorganismos durante la elaboración, almacenamiento y paso por el tracto gastrointestinal (Figueroa-González et al., 2011). Por estos motivos, es fundamental que futuras investigaciones tengan como objetivo evaluar nuevas matrices alimenticias que sirvan como medios alternativos para garantizar un consumo adecuado de probióticos, que según lo establecido por la FDA (Food and Drug Administration) de los EE.UU. es de al menos 10^6 UFC ml^{-1} , y si se tiene en cuenta su viabilidad durante el almacenamiento, debería estar entre 10^8 UFC ml^{-1} y 10^9 UFC ml^{-1} , si se quieren aprovechar sus beneficios (Tripathi and Giri, 2014).

Según la definición de la FAO/WHO (2001), los probióticos son microorganismos vivos que cuando son administrados en cantidades adecuadas confieren un beneficio a la salud del organismo que los consume. En este sentido, los alimentos que contienen la suficiente cantidad de probióticos pueden ser considerados como alimentos funcionales, que por definición son aquellos que, consumidos como parte normal de la dieta, han demostrado tener beneficios fisiológicos como la reducción del riesgo de presentación de enfermedades crónicas, adicional a las funciones nutricionales que aportan. Dentro de los alimentos comerciales más ampliamente utilizados como vehículos para estos microorganismos benéficos están los yogures y otras leches fermentadas, productos de confitería y alimentos destinados para la primera infancia (Cruz-Guerrero et al., 2014).

El uso del queso como vehículo para la liberación de probióticos puede ofrecer ventajas frente a otros alimentos fermentados como el yogur, debido a un pH relativamente más alto, su contenido graso, una sólida consistencia y una mayor capacidad buffer. Estas condiciones ofrecen una mayor protección para estos microorganismos tanto en el almacenamiento, como durante el tránsito a través del tracto gastrointestinal (Hayes et al., 2006), (Gomes da Cruz et al., 2009), (Pitino et al., 2012).

De acuerdo con Figueroa-González et al. (2011), quienes citan a (Saier Jr. y Mansour, 2006), los probióticos son capaces de conferir sus beneficios a través de tres mecanismos principalmente. El primero hace referencia a la provisión de productos provenientes de la fermentación anaeróbica de carbohidratos, como por ejemplo ácidos orgánicos, que finalmente son absorbidos por el organismo hospedero. El segundo se relaciona con la competencia ejercida frente a otras poblaciones como los microorganismos patógenos. Por último, por medio de la producción de polisacáridos específicos que estimulan el sistema inmunitario.

Entre los muchos beneficios específicos que ofrecen los probióticos se encuentran: el control del síndrome de intestino irritable y enfermedades intestinales inflamatorias, la reducción de los niveles de colesterol sérico, la supresión de patógenos, reducción de riesgo de padecer cáncer de colón, el mejoramiento de la intolerancia a la lactosa, mejoramiento de las respuestas inmunitarias, y el alivio de los síntomas de alergia a ciertos alimentos en niños (Tripathi y Giri, 2014), (Kerry et al., 2018).

De igual manera, en las últimas décadas se desarrolló el concepto de prebiótico, entendido como aquellos carbohidratos que no son digeribles por las enzimas humanas y que tienen la capacidad de ejercer cambios en la composición de la microbiota intestinal, favoreciendo aquellas poblaciones con beneficios en la salud (Figuroa-González et al., 2011). Dentro de este grupo se encuentran los fructo-oligosacáridos, galacto-oligosacáridos, ciclodextranos, malto-oligosacáridos, entre otros. Estos compuestos se caracterizan por la especificidad con la que son usados, pues ninguna otra bacteria del intestino diferente a los probióticos puede metabolizarlos. Por su parte, éstos últimos al aprovecharlos producen ácidos grasos de cadena corta, principalmente ácido acético, propiónico y butírico, que entre otros beneficios sirven como fuente de energía (Al-Sheraji et al., 2013).

La inclusión de prebióticos en alimentos también tiene retos que deben ser superados, por ejemplo, las técnicas para su síntesis pueden ser costosas debido a bajos rendimientos. Sin embargo, se han planteado soluciones como la obtención o extracción de oligosacáridos a partir de cereales como la avena, el arroz, la cebada, etc; que son ricos en fibra dietaria, dentro de la cual se encuentran potenciales prebióticos (Figuroa-González et al., 2011).

La avena (*Avena sativa*) es una buena fuente de fibra dietaria (tanto soluble como insoluble), compuestos antioxidantes, proteínas y grasa insaturada. Su consumo provee beneficios a la salud tales como la reducción de los niveles de colesterol en la sangre, debido principalmente al contenido de fibra soluble (Hussain et al., 2018). El principal componente de la fibra soluble de la avena comprende un grupo de polisacáridos denominados β -D-glucanos, compuestos de unidades de D-glucosa unidas mediante enlaces β (1 \rightarrow 3) (1 \rightarrow 4) (Daou y Zhang, 2012). En este sentido, la inclusión de este tipo de oligosacáridos presenta ventajas para el desarrollo de nuevos productos alimenticios con beneficios para la salud, pues han cobrado mucha importancia como consecuencia de sus efectos terapéuticos frente a enfermedades metabólicas (Patel, 2015).

Finalmente, se acuñó el término simbiótico para hacer referencia a aquellos alimentos que cuentan con una mezcla de prebióticos y probióticos, y como consecuencia, se han realizado investigaciones con el fin de evaluar la viabilidad de estos alimentos, y la eficacia con que estos liberan los ingredientes funcionales.

Como consecuencia de lo anterior, esta investigación tuvo como objetivo principal la evaluación de la inclusión de oligosacáridos de avena en la formulación de quesos

frescos. Para ello se evaluó la extracción de estos compuestos por un método convencional frente a una extracción asistida por ultrasonido. Posteriormente, se evaluó la inclusión de los oligosacáridos sobre las características fisicoquímicas de un queso fresco tipo cuajada; y por último se evaluó la estabilidad en almacenamiento de un queso fresco tipo panela con inclusión de oligosacáridos de avena junto con el probiótico *Lactobacillus casei* subsp. *rahamnosus*.

1. Marco conceptual

1.1 Fibra dietaria: definición, componentes y efectos fisiológicos

A pesar de que aún existe la discusión en torno a la definición de fibra dietaria, ésta es en esencia la suma de todos los componentes de un ingrediente o producto alimenticio que no son hidrolizados por las enzimas endógenas del intestino humano (Nielsen, 2010). Por su parte, la FDA (2016) la define como aquellas fibras naturales que se encuentran de manera intrínseca e intacta en las plantas, así como carbohidratos no digeribles aislados o sintéticos, a los cuales se les ha comprobado los beneficios fisiológicos que tienen sobre la salud humana, tales como efectos laxantes, disminución de los niveles de colesterol y glucosa en sangre, entre otros.

La fibra dietaria consiste principalmente de carbohidratos no amiláceos, que se encuentran en su mayoría como constituyentes de la pared celular de plantas, entre los cuales se encuentran la celulosa, hemicelulosa y lignina. Otros polisacáridos de origen vegetal o algas como las gomas, los mucílagos y oligosacáridos como la inulina son también considerados como fibra dietaria. Igualmente, aquellos carbohidratos fermentables en el intestino grueso como el almidón resistente, los fructooligosacáridos, celulosas modificadas y algunos polímeros sintéticos como la povidona, hacen parte de esta clasificación (Gray, 2006).

A continuación, en la Tabla 1-1 se presentan los principales componentes de la fibra dietaria, con su correspondiente definición y algunos beneficios que proveen.

Tabla 1-1: Principales componentes de la fibra dietaria.

Componente	Definición
Celulosa	Polímero lineal de unidades de β -D-glucopiranosas, que puede llegar a contener hasta 10000 unidades por molécula.

Los puentes de hidrógeno entre moléculas paralelas hacen que se formen fibras fuertes, insolubles y resistentes a la degradación. Constituye alrededor de un cuarto de la fibra dietaria presente en granos y frutas, siendo el componente principal de la fibra presente en el salvado de cereales (Nielsen, 2010).

Hemicelulosa

Es un grupo heterogéneo de polisacáridos que comparten entre sí el estar asociados a la celulosa en la pared de las células vegetales. Sus moléculas tanto lineales como ramificadas están conformadas por unidades de pentosas como la xilosa y arabinosa, así como hexosas entre las que se encuentran la glucosa, galactosa, manosa y rhamnosa. Puede ser soluble o insoluble en agua, y corresponde a un tercio de la fibra dietaria de verduras, frutas y legumbres (Gray, 2006).

Lignina

La lignina no es un polisacárido, es un polímero constituido de unidades de fenilpropano, insoluble en agua y químicamente asociado a la hemicelulosa. Se encuentra en la pared celular de las capas más externas de los cereales (Fuller, Beck, Salman, y Tapsell, 2016).

Pectinas

Es un grupo de polisacáridos solubles en agua caliente que comparten una estructura similar, consistente de una cadena lineal de unidades de ácido α -D-galacturónico. Se encuentran tanto en la pared celular como en tejidos intracelulares de frutas y verduras, representando entre un 15 y 20% de la fibra de estos alimentos. Son capaces de formar geles por enfriamiento, lo cual se asocia al mecanismo por el cual confiere beneficio a la salud (Gray, 2006), (Nielsen, 2010).

 β -glucanos

Son polímeros de unidades de glucosa unidos mediante enlaces glucosídicos β (1 \rightarrow 3), β (1 \rightarrow 4) y β (1 \rightarrow 6). Se encuentran principalmente en cereales como la avena y la cebada. En su mayoría son hidrosolubles, siendo en el caso

	de la avena un 85% soluble en agua (Gray, 2006), (Ahmad et al., 2012).
Almidón resistente	Es todo aquel almidón no digerido en el intestino delgado. Existen cuatro fuentes de almidón resistente: almidón inaccesible, es decir, que se encuentra atrapado en la matriz alimenticia (RS1); el almidón que se resiste a la hidrólisis enzimática (almidón crudo) (RS2); el almidón retrogradado (RS3), que se ha recristalizado después del proceso de gelatinización; y por último aquel almidón que ha sido modificado en su estructura, lo cual lo hace menos digestible (Nielsen, 2010).
Hidrocoloides/Gomas	Grupo diverso de polímeros de cadena larga, que pueden ser total o parcialmente solubles en agua y propensos a hincharse. Son extraídos principalmente de algas marinas (alginatos y carrageninas), bacterias (goma xanthana y goma gellan) o de exudados de árboles y arbustos (goma guar (Gray, 2006), (Nielsen, 2010).
Compuestos sintéticos	Los análogos de carbohidratos son polisacáridos que poseen la resistencia a la digestión, la fermentabilidad y con las propiedades fisiológicas propias de las fuentes naturales de fibra. Algunos ejemplos son la povidona, derivados sintéticos de celulosa y dextrinas indigeribles (Fuller, Beck, Salman, y Tapsell, 2016).

La fibra dietaria puede clasificarse según su grado de solubilidad en fibra soluble e insoluble. Algunas hemicelulosas que no se encuentran asociadas a la matriz celulosa-lignina, las pectinas nativas y en general los hidrocoloides y las gomas pertenecen al componente soluble de la fibra dietaria; mientras que la celulosa propia del alimento, así como la adicionada en forma de ingrediente, la lignina, las hemicelulosas asociadas a la celulosa y el almidón resistente hacen parte del componente insoluble de la fibra dietaria (Nielsen, 2010), (Ciudad-Mulero et al., 2019).

Esta clasificación no necesariamente evidencia la funcionalidad fisiológica de la fibra dietaria, por lo cual clasificarla según su grado de fermentabilidad y viscosidad puede dar

una diferenciación más exacta en función de estos efectos fisiológicos. A pesar de que existe una relación entre la solubilidad de los componentes de la fibra dietaria y su nivel de fermentabilidad, siendo los más solubles aquellos más propensos a la degradación enzimática; algunos hidrocoloides como los alginatos y las carrageninas que son solubles tienen un grado de fermentabilidad muy bajo, o por el contrario el almidón resistente que hace parte de la fibra dietaria insoluble, una fermentabilidad del 100% (Dahl y Stewart, 2015).

El consumo recomendado de fibra está basado en la capacidad de esta para reducir al máximo el riesgo de presentación de enfermedad coronaria, y en segunda medida en la reducción del riesgo de padecer diabetes tipo II. Según el Comité de Nutrición y Alimentos del Instituto de Medicina (IOM) de los EE.UU., el consumo adecuado de fibra total es de 14 g/1000 kcal, por lo cual se recomienda un consumo de 25 g/ día para mujeres y 38 g/día para hombres (Delcour et al.,2016).

1.1.1 Beneficios fisiológicos de la fibra dietaria

Los efectos fisiológicos de la fibra dietaria se encuentran determinados por las propiedades fisicoquímicas y funcionales que esta posee, tales como viscosidad, solubilidad y capacidad de retención de agua (Maphosa y Jideani, 2016). En la tabla 1-2 se presentan los principales efectos fisiológicos que tiene la fibra dietaria sobre la salud humana.

Tabla 1-2: Efectos fisiológicos de la fibra dietaria en la salud humana.

Efecto	Descripción
Efecto laxante	Las dietas altas en fibra producen un mayor volumen de masa fecal en el intestino grueso, que resulta en un incremento de la motilidad y un estímulo a la excreción por medio de la activación de receptores intramusculares (Fuller et al., 2016).
Disminución de colesterol	Las fibras solubles forman una capa viscosa en el intestino delgado, que restringen la reabsorción de ácidos biliares, por lo cual la producción de estos a partir del colesterol se incrementa, y el nivel de colesterol circundante en la sangre decrece (Fuller et

	al.2016).
Reducción de glucosa postprandial	Las fibras con alta viscosidad cuando se mezclan con fluidos se espesan y por tanto desaceleran el vaciamiento gástrico, y reducen la digestión y la absorción de la glucosa en el intestino delgado, lo cual se traduce en la alteración del nivel de glucosa en sangre y en una menor respuesta insulínica (Brownlee, 2011).
Prevención de cáncer de colon	Según el Fondo Mundial de Investigación del Cáncer, por cada 10 g de fibra dietaria total consumida al día, el riesgo de padecer cáncer de colon se reduce en un 10%. Dependiendo de la fuente de fibra dietaria, el porcentaje de reducción puede ser mayor. Al incrementar la masa fecal, y disminuir el tiempo del tránsito intestinal, la fibra dietaria evita que las células del epitelio del colon estén expuestas a altas concentraciones de agentes carcinogénicos, durante largos períodos de tiempo (Dahl y Stewart, 2015).
Incremento de la saciedad	Las fibras solubles y con alta viscosidad como los β -glucanos de la avena retrasan el vaciamiento gástrico y reducen la absorción de nutrientes. Igualmente, la interacción con las células productoras de hormonas de la saciedad estimula la producción de péptidos que regulan el apetito (Rebello et al., 2016).
Efecto prebiótico sobre la microbiota intestinal	La microbiota intestinal puede sufrir cambios con el consumo de fibras catalogadas como prebióticos, que estimulan el crecimiento y actividad de poblaciones benéficas como los lactobacilos y las bifidobacterias; además de influir en el balance de sus metabolitos, pues al fermentarlas, producen ácidos grasos de cadena corta (AGCC), que son benéficos para la salud (Fuller et al.,2016), (Brownlee, 2011).

1.2 Prebióticos

Los prebióticos son todos aquellos ingredientes alimenticios no digeribles, que tienen la capacidad de conferir beneficios al individuo hospedero mediante el estímulo del crecimiento o actividad de uno o más número limitado de bacterias (Al-Sheraji et al., 2013). Existen tres características que debe cumplir un compuesto para poder ser catalogado como prebiótico: en primera instancia debe ser resistente al pH ácido del estómago, a la hidrólisis de enzimas de mamíferos y a la absorción gastrointestinal; segundo debe ser fermentable por la microbiota presente en el intestino y por último estimular selectivamente el crecimiento y actividad de bacterias asociadas con la promoción de la salud, es decir, los probióticos (Delcour et al., 2016).

Los prebióticos más conocidos que cuentan con respaldo científico en su uso en alimentos o suplementos son los fructanos tipo inulina y los galacto-oligosacáridos. Sin embargo, existen otros compuestos como xilo-oligosacáridos, malto-oligosacáridos, ciclodextrinas, oligosacáridos de rafinosa, palatinosa, entre otros, que están clasificados como tipos de prebiótico (Mohanty et al., 2018). A continuación, se describen algunos de estos compuestos con función prebiótica:

- **Fructanos tipo inulina:** Son oligómeros o polímeros de fructosa que pueden encontrarse en gran variedad de vegetales, e incluso ser aislados de plantas no comestibles o sintetizados a partir de sacarosa (Delzenne et al., 2019). Las cadenas más largas tienen un nivel de polimerización de hasta 60 unidades y corresponden a la inulina; mientras que las cadenas cortas compuestas entre 2 y 8 unidades corresponden a oligofructosa y/o fructo-oligosacáridos (Wilson y Whelan, 2017). Se ha demostrado su capacidad de estimular a ciertas poblaciones de bacterias como las bifidobacterias; además de mejorar la absorción de minerales en el intestino (Peshev y Ende, 2014).
- **Galacto-oligosacáridos:** Son polímeros de β -galactosa con un monómero de glucosa terminal unidos mediante enlaces glucosídicos tipo β . Son comercialmente producidos mediante la hidrólisis de la lactosa y su grado de polimerización es de 2 a 8 unidades (Torres y Gonc, 2010). Los encontrados de forma natural en las plantas consisten de glucosa y galactosa unidas mediante enlaces (α) y una terminal de β -fructosa (Wilson y Whelan, 2017). En infantes se relacionan con el desarrollo del sistema inmunitario, así como de la microbiota intestinal, pues también se encuentran presentes

en la leche materna (Gibson et al., 2017). En adultos sus efectos comprobados son más limitados, pero se ha evidenciado una reducción de marcadores pro-inflamatorios asociada a un incremento en bacterias de los géneros *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*. y *Enterococcus* (Delzenne et al., 2019), (Vulevic et al., 2008).

- **Dextrina resistente:** Es una fibra soluble de baja viscosidad y buena consistencia. Consiste en un polímero de glucosa obtenido a partir del almidón de trigo o maíz, a través de un proceso de calentamiento a altas temperaturas, seguido de un tratamiento enzimático hasta obtener un almidón resistente (Delzenne et al., 2019). Comercialmente se encuentran suplementos de dextrina resistente, que han evidenciado algunos beneficios como el mejoramiento en la respuesta insulínica de mujeres con diabetes tipo II (Aliasgharzadeh et al., 2015), o el incremento en la población de lactobacilos, y reducción de *Clostridium* (Slavin, 2013).

- **Arabinosilanos:** Son el principal polisacárido no amiláceo y diferente a la celulosa presente en los cereales. Consiste de una cadena lineal de residuos de xilosa, a los cuales pueden vincularse arabinosas, y por lo tanto se habla de una relación Arabinosas/Xilosas dependiendo del grado de sustitución (Delzenne et al., 2019). Estos polisacáridos son degradados selectivamente por bacterias que sintetizan enzimas como las xilanasas y arabinofuranosidasa, especialmente de lactobacilos, bacteroides y *Clostridium* no patogénico. En el caso de las bifidobacterias no se ha reportado la producción de xilanasas (Mendis y Simsek, 2013).

Algunas fuentes naturales de prebióticos son vegetales como la alcachofa, el centeno, la cebolla, el tomate, el ajo, la remolacha y otros alimentos como la leche, las setas y la miel (Khangwal y Shukla, 2019). A pesar de que por métodos enzimáticos se pueden obtener estos compuestos, se presentan algunos inconvenientes respecto al rendimiento de extracción y costos de producción (Figuroa-González et al., 2011). En este sentido, se siguen investigando nuevas fuentes potenciales de prebióticos, principalmente cereales como el trigo, arroz, cebada y avena, que pueden representar una ventaja en términos económicos (Khangwal y Shukla, 2019).

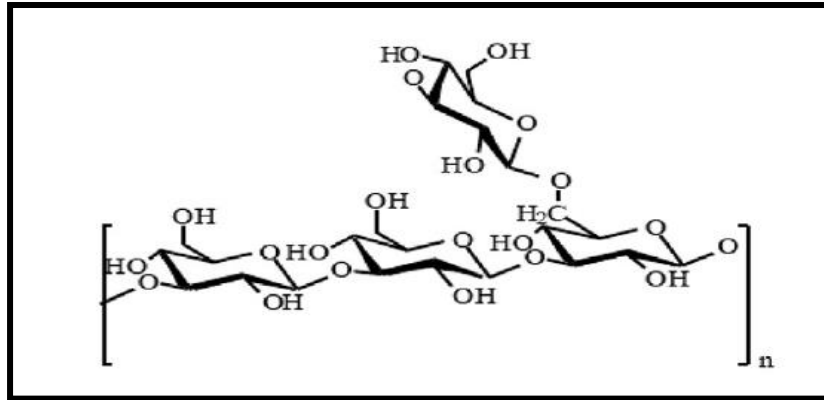
1.3 La avena como fuente de oligosacáridos con potencial prebiótico

Los cereales representan una importante fuente de alimento para gran parte de la población mundial. Entre ellos, el trigo, el arroz y el maíz son los más consumidos, ya sea enteros o fracciones de ellos. Por su parte, la avena, como cultivo tiene gran importancia en países en vía de desarrollo, a pesar de que es mayoritariamente cultivada y utilizada para la alimentación animal en países industrializados como los Estados Unidos, Canadá y Rusia. Sin embargo, como consecuencia de algunos beneficios sobre la salud que se le atribuyen a este cereal, su interés en el desarrollo de nuevos alimentos es cada vez mayor (Rasane et al., 2015).

La avena (*Avena sativa*) se encuentra clasificada como un grano entero, es decir, que conservan sus tres partes constituyentes: el salvado, el endospermo y el germen. Es una fuente rica en carbohidratos, y proteína de buena calidad con un adecuado balance de aminoácidos. Igualmente es rica en componentes de fibra dietaria entre los que se destacan oligosacáridos como los β -glucanos, además de poseer un alto porcentaje de lípidos, especialmente ácidos grasos insaturados, así como vitaminas y minerales (Clemens y Van Klinken, 2014).

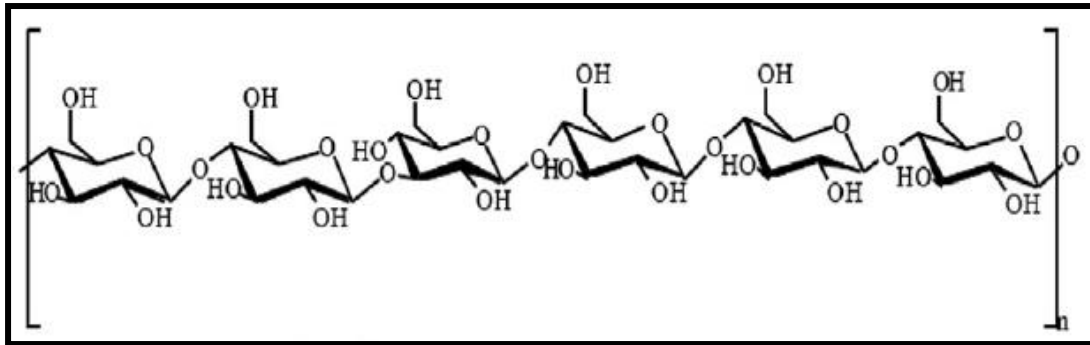
1.4 β -glucanos: definición, rol en la salud y métodos de extracción

Los β -glucanos son polímeros lineales compuestos de unidades de D-glucosa unidos por medio de enlaces glucosídicos tipo β . Pueden encontrarse en una amplia variedad de fuentes naturales como levaduras y setas, cuyos enlaces son de tipo β -(1 \rightarrow 3) y β -(1 \rightarrow 6) (Figura 1-1), mientras que los encontrados en cereales como la avena y la cebada presentan enlaces β -(1 \rightarrow 3) y β -(1 \rightarrow 4) (Figura 1-2); (Ahmad et al., 2012).



Fuente: (Zhu, Du, y Xu, 2016).

Figura 1-1: Estructura de los β -glucanos con enlaces glucosídicos β -(1 \rightarrow 3) y β -(1 \rightarrow 6).



Fuente: (Zhu, Du, y Xu, 2016).

Figura 1-2: Estructura de los β -glucanos con enlaces glucosídicos β -(1 \rightarrow 3) y β -(1 \rightarrow 4).

En general, los β -glucanos se encuentran en las paredes celulares del salvado y endospermo de estos cereales; en este último están constituidos aproximadamente de un 30% de enlaces (1 \rightarrow 3) que se presentan de manera singular (dos unidades de glucosa unidas por este enlace), y un 70% de enlaces (1 \rightarrow 4) que se presentan principalmente en secuencias de 2 o 3, aunque pueden ser más (tres o más unidades de glucosa continuas unidas por este tipo de enlace). El peso molecular de estos oligosacáridos varía entre los diferentes cereales; en el caso de los β -glucanos de la avena se encuentra entre 0.065 y 3×10^6 g/mol (Brennan y Cleary, 2005).

Su contenido puede verse afectado por la variedad de avena, así como por factores ambientales como la germinación, el nivel de irrigación en el cultivo, la degradación enzimática durante el almacenamiento del grano, y los procesos de elaboración de

alimentos; sin embargo, se tiene que su contenido promedio está entre el 4 y 7% (Aparicio y Ortega, 2015).

1.4.1 β -glucanos: Efectos en la salud y prevención de enfermedades

Los β -glucanos de la avena estimulan selectivamente el crecimiento de las poblaciones de microorganismos autóctonos del intestino, al representar una fuente de carbono para ellos. Además se ha comprobado que estos oligosacáridos tienen potencial para controlar el peso corporal, reducir los niveles de colesterol sérico y mejorar la glicemia postprandial (Shen et al., 2012). Asimismo, influyen de manera positiva en el metabolismo de la glucosa, por lo que representan una ventaja especial para pacientes que sufren de diabetes *mellitus* tipo II y síndrome metabólico (Durán y Angarita, 2016).

Estos oligosacáridos son considerados un ingrediente alimenticio funcional y bioactivo, que permite reducir el riesgo de un amplio espectro de enfermedades crónicas, si se consume a diario. Pese a que se han evidenciado estos beneficios, aún existe un gran desconocimiento frente al mecanismo de acción de los β -glucanos, así como a la manera en que se pueden mejorar estas ventajas (Zielke et al., 2017).

Según la FDA (U.S. Food and Drug Administration) y la EFSA (European Food Safety Authority), para lograr una reducción de los niveles de colesterol total y de baja densidad (LDL), y por ende el riesgo de presentación o progreso de enfermedad coronaria, el consumo de β -glucanos de avena o cebada debe ser de 3 g/día (Ahmad et al., 2012).

1.4.2 Extracción de β -glucanos de la avena

Las metodologías para el proceso de extracción de β -glucanos a partir de cereales como la avena se basan principalmente en su solubilidad en agua caliente y en soluciones alcalinas, en la separación de proteínas disueltas, y por último en la precipitación de los β -glucanos mediante la acción de sulfato de amonio, 2-propanol o etanol (Zhu et al., 2016).

El método de extracción más idóneo va a depender de la fuente de β -glucanos, así como de su estructura; sin embargo, el método de extracción con agua caliente es el más ampliamente empleado. Existen otros métodos de extracción a nivel de laboratorio y

plantas piloto como la extracción alcalina, extracción asistida por ultrasonido, extracción enzimática, extracción ácida, entre otros (Ahmad et al., 2012). Igualmente, algunos pasos previos como la molienda, tamizado, hidrólisis enzimática del almidón, la precipitación de proteínas, agitación, etc. son compartidos por la mayoría de las metodologías. Finalmente, su aislamiento y purificación pueden realizarse por diferentes procedimientos entre los que se encuentran, la precipitación isoeléctrica, precipitación con etanol, coagulación y filtración, y distintas técnicas cromatográficas (Zhu et al., 2016).

Durante el proceso de extracción de los β -glucanos de avena o cebada pueden presentarse algunas impurezas. Entre ellas, la más común y dominante, según Shah et al. (2017), es la presencia de proteínas. Los valores óptimos de pH y temperatura para la extracción, según el método desarrollado por Temelli (1997), son de 7.0 y 55°C respectivamente, pues bajo estas condiciones se alcanza un nivel de pureza del 90,98% para los β -glucanos de la avena, suficiente para poder expresar su potencial benéfico sobre la salud. Zielke et al. (2017) por su parte consideran que aún persisten algunos problemas relacionados con su extracción. Por ejemplo, plantean retos en cuanto al bajo rendimiento y pureza en condiciones diversas como a bajas temperaturas.

Ahmad et al. (2010) encontraron rendimientos de extracción entre 3.74 y 5.14% bajo diferentes metodologías de extracción, siendo mayor el obtenido con el método enzimático. Asimismo, se encontró una mayor recuperación de β -glucanos en el extracto con este mismo método; sin embargo, algunas pequeñas cantidades de grasa, proteínas, almidón y cenizas fueron encontradas en el extracto.

▪ **Extracción asistida por ultrasonido**

Se basa en el proceso de propagación de ondas de sonido en los líquidos, que genera ciclos de compresión (alta presión) y rarefacción (baja presión). Como consecuencia se presenta el fenómeno de cavitación, que consiste en la generación de gran cantidad de burbujas pequeñas que se crean y colapsan cuando no son capaces de absorber más energía, lo cual produce intenso calor y hace que el solvente pueda penetrar más efectivamente en el sólido suspendido, y por ende incrementar la transferencia de masa con el fin de mejorar el rendimiento de extracción. Benito-Román et al. (2013) señalan que el método de extracción asistida por ultrasonido es un proceso eficiente para extraer β -glucanos de alto peso molecular a partir de cebada. Este proceso requiere de un bajo consumo de energía, que se encuentra por debajo de los 500 kJ/L. Sin embargo, la

energía, principalmente moderada por el tiempo y la amplitud, es el factor determinante en el desempeño del tratamiento. Todo depende del producto final que se pretenda obtener, pues con tratamientos de baja intensidad, es decir bajo consumo de energía, se obtienen oligosacáridos de alto peso molecular, pero se sacrifica el rendimiento de extracción. Por el contrario, con tratamientos de alta intensidad el rendimiento puede ser mayor, pero se da una considerable despolimerización de los β -glucanos.

Por otra parte, se ha sugerido que su actividad biológica (activación de los leucocitos intestinales, reducción de colesterol en sangre y regulación de los niveles de glucosa postprandial, etc.) depende estrechamente del peso molecular y la conformación de los oligosacáridos. De manera que algunos métodos de extracción pueden determinar la estructura y naturaleza de los mismos, induciendo así cambios en sus efectos sobre la salud, por ejemplo en el control de la glicemia, la reducción del colesterol, etc. (Ahmad et al., 2010). Brennan y Cleary (2005) señalan que estas propiedades fisiológicas se encuentran relacionadas en parte con las características reológicas del β -glucano, pues existe evidencia de la relación inversa entre variaciones de la viscosidad de soluciones con β -glucano (*p.ej.* bebidas) y modificaciones en las repuestas de niveles de glucosa e insulina. Esta viscosidad a su vez depende de la concentración y del peso molecular de estos compuestos. Aquellos con un alto peso molecular incrementan la viscosidad de la muestra incluso a muy bajas concentraciones; por el contrario, aquellos con bajo peso molecular forman geles suaves a altas concentraciones (Aktas-Akyildiz et al., 2018).

Dong et al. (2017) reportaron diferencias significativas del potencial prebiótico de los β -glucanos de avena en su forma original, con respecto al de sus hidrolizados sometidos a fermentación *in vitro* empleando bacterias fecales y ciertas cepas de probióticos. Encontraron que los hidrolizados evidenciaban una mayor fermentabilidad, pues el pH fue menor como consecuencia de una mayor producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) tales como acetato, propionato y butirato, por lo que sugieren que estas fracciones tienen un mayor potencial prebiótico. En términos de cambios en la población de bacterias no encontraron diferencias significativas entre los hidrolizados y los β -glucanos, promoviendo ambos el crecimiento de lactobacilos. Sin embargo, recomiendan en estudios futuros evaluar cuantitativamente la producción de los AGCC por lactobacilos a partir de β -glucanos o sus fracciones.

1.3.3 Aplicaciones de β -glucanos de la avena en la industria de alimentos

El uso de β -glucano como ingrediente en la formulación de alimentos ha estado enfocado en productos de panadería y en la industria de bebidas, en aras de aprovechar sus características como agente espesante, estabilizante, emulsificante y gelificante (Ahmad et al., 2012), (Angelov et al., 2018), (Vasquez-Orejarena et al., 2018). Sin embargo, en la industria láctea se han realizado estudios en los cuales se incorporan en conjunto con otros compuestos como la inulina o proteínas del suero lácteo.

Ladjevardi et al. (2016) elaboraron un yogur a partir de leche de camella con tres diferentes niveles de grasa (0, 2,5 y 5%) y con 0, 1 y 2% de β -glucano. En este producto la viscosidad incrementó en la medida que el nivel del prebiótico y el contenido de grasa lo hicieron. Durante el período de almacenamiento la viscosidad presentó un incremento como consecuencia de una mayor hidratación del β -glucano. Respecto a la viabilidad de los probióticos inoculados en el yogur, se evidenció un ascenso significativo durante el tiempo de almacenamiento cuando se suplementó con β -glucano, es decir, se logró constituir un ambiente adecuado para estos microorganismos. Por su parte, Volikakis et al. (2004) indicaron que la adición de β -glucano en queso blanco en salmuera bajo en grasa mejoró la textura con respecto al queso bajo en grasa sin la adición de este.

1.5 Probióticos

La mayoría de los microorganismos probióticos corresponden a los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*; sin embargo, otras bacterias e incluso algunas levaduras podrían considerarse dentro de esta categoría. Los lactobacilos se caracterizan por ser bacterias Gram positivas, no esporuladas, aerotolerantes y acidotolerantes, y estrictamente fermentativas. Las bifidobacterias son también Gram positivas, no esporuladas y anaerobias (Figueroa et al., 2011). Dentro del género *Lactobacillus* se encuentran alrededor de 174 especies que cumplen un papel importante ya sea como cultivos iniciadores o secundarios; mientras que el género *Bifidobacterium* es un grupo de microorganismos no iniciadores, empleados fundamentalmente en leches fermentadas (Fernández et al., 2015).

La viabilidad de los microorganismos probióticos debe ser garantizada a través de tres etapas: durante las condiciones de almacenamiento de las matrices en las cuales se

encuentran incluidos, el proceso de manufactura de estas, y el ambiente que estas les brindan para poder implantarse en el intestino. Esto con el fin de lograr la expresión de los beneficios en la salud asociados a cada uno (Figueroa-González et al., 2011).

1.5.1 *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* como probiótico en la industria de alimentos

Dentro del género de *Lactobacillus*, bacterias facultativas homofermentativas, se encuentra el grupo *Lactobacillus casei*, taxonómicamente muy cercano formado por las especies *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei* y *Lactobacillus rhamnosus* (Salvetti et al., 2012), (Koirala et al., 2015). Estas especies guardan una alta similitud en los aspectos filogenético, fenotípico y bioquímico, por lo cual se ha dificultado el desarrollo de un método selectivo, que permita identificarlas de forma adecuada (Bottari et al., 2017).

Lactobacillus rhamnosus es una bacteria facultativa heterofermentativa, encontrada en varios productos lácteos, que puede ser adicionada como probiótico, o incluso encontrarse como microorganismo natural en leche cruda (Lazzi et al., 2014). Es una bacteria ácido láctica, termófila, no generadora de esporas, Gram positiva utilizada como probiótico en la producción de yogurt y quesos (Anukam et al., 2008), (Crane et al., 2008), (Solieri et al., 2018). Se destaca ya que aporta importantes beneficios a la salud del consumidor, según la variedad utilizada en el alimento (Tabla 1-3), y puede encontrarse en cultivos lácticos comerciales (Cruz-Guerrero et al., 2014).

Tabla 1-3: Beneficios para la salud y los alimentos del probiótico *Lactobacillus rhamnosus*.

Aplicación	Beneficios	Referencias
Salud	Ayuda en casos de diarrea aguda por rotavirus en niños.	(Ahmadi et al., 2015), (Sichetti et al., 2018)
	Efecto antiinflamatorio del epitelio intestinal.	
	Posee actividad antioxidante en el intestino y es resistente a antibióticos.	(Shahid et al., 2017)
	Estimula la producción de angiotensina.	(Solanki y Hati, 2018)

	Ayuda a mejorar las infecciones urinarias.	(Montorsi et al., 2016)
	Mejora los problemas de dermatitis atópica en niños.	(Wang y Rhim, 2016)
Salud	Prevención de hepatitis, potencial protector contra aflatoxicosis.	(Chen et al., 2019)
	Actúa como inmunomodulador.	(Shao et al., 2014),
	Reduce los problemas asociados al asma.	(Wu, Chen et al., 2016)
	Actúa como antioxidante en diferentes tipos de quesos.	(Liu et al., 2017), (Liu et al., 2018)
Alimentos	Controla los patógenos en alimentos como el yogur.	(Kamal et al., 2018)
	Actúa como biopreservante en alimentos durante su almacenamiento.	(Rascón et al., 2018)
	Se usa como fortificador en compotas.	(Panda et al., 2018)

1.6 Queso

Se denomina queso al producto alimenticio fresco o madurado; blando, semiduro, duro y extra duro, en el cual la relación proteína/caseína no excede a la de la leche. Puede ser obtenido por dos vías: la primera es la coagulación de leche cruda o pasteurizada por medio de la acción enzimática del cuajo u otro coagulante y el posterior desuerado; y la segunda por medio de técnicas de coagulación de la leche y/o derivados de la misma, que resultan en productos con características fisicoquímicas y sensoriales propias del queso (ICONTEC, 2009), (Codex-Alimentarius, 2013).

En general, el consumo de queso en Colombia ha incrementado en los últimos años, alcanzándose un consumo per cápita de 1.5 kg para febrero de 2019. Sin embargo, el potencial de crecimiento es considerable si se tiene como referencia el consumo de países de la región como Chile (9.7 kg) o Brasil (4 kg), o grandes consumidores de queso como Francia (23 kg) y EE.UU (14 kg), (Portafolio, 2019).

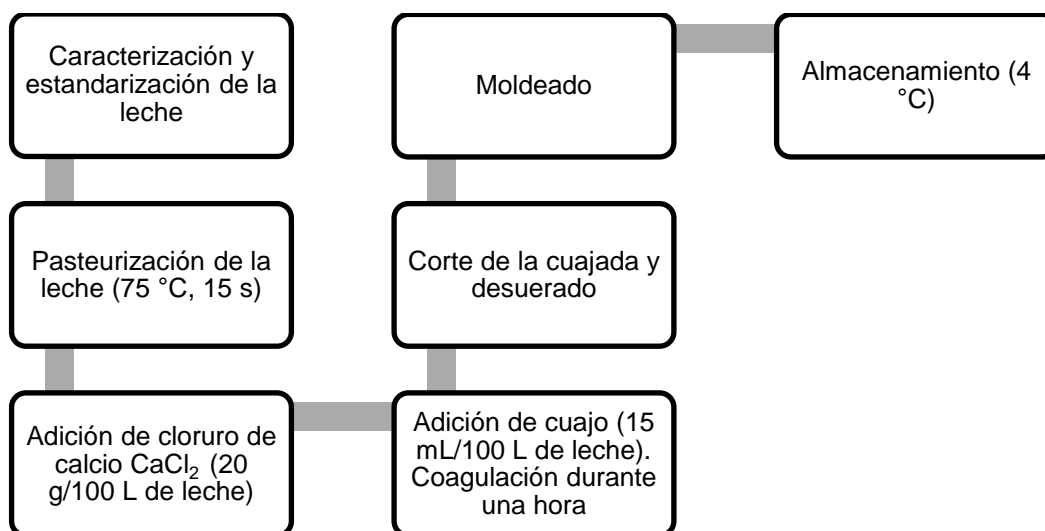
1.6.1 Queso fresco

El queso fresco por su parte es aquel producto higienizado, no madurado y listo para consumo una vez que es fabricado. Se caracteriza por un elevado contenido de

humedad, sabor suave y una vida útil en almacenamiento corta, por lo cual requiere de refrigeración (Ramírez-López y Vélez-Ruiz, 2012). Dentro de este grupo se encuentra el queso panela, obtenido por coagulación enzimática, de pasta blanda y prensado. Es uno de los quesos más consumidos en México, pues representa entre el 13 y 14% del mercado de quesos en este país (SAGARPA, 2017). Es suave, de color blanco, toma la forma de la canasta en la cual es procesado y dentro de la microbiota que se puede encontrar en él se encuentran bacterias de los géneros *Lactococcus* y *Enterococcus* presentes en el ambiente en el cual es elaborado, lo cual contribuye al desarrollo de su sabor, olor y textura (González-Córdova et al., 2016). En Colombia este producto es conocido como queso campesino, y junto con otros quesos frescos como quesos costeños y doble crema son los más consumidos en el país (FEDEGAN, 2019). Asimismo, en Colombia se produce y se comercializa la cuajada, que es un tipo de queso fresco, con consistencia semiblanda, graso (elaborado con leche entera), no ácido, alto contenido de humedad, bajo o nulo contenido de sal, y moldeado sin prensar; siendo estas dos últimas características las principales diferencias con el queso campesino o panela (Tabares y Feria, 2009).

▪ Elaboración y composición

En la Figura 1-3, se presenta el esquema general del proceso de elaboración de un queso fresco no ácido: campesino, panela y/o cuajada.



Fuente: Adaptado de Jiménez et al. (2009).

Figura 1-3: Proceso de elaboración del queso fresco: panela, campesino, cuajada.

Respecto a la composición de quesos frescos, se presentan en la tabla 1-4 los valores para contenido de humedad, grasa, proteína; así como valores de pH para el queso panela de México, su homólogo en Colombia conocido como queso campesino, y un tipo de queso fresco colombiano denominado cuajada, que es consumido ampliamente como postre.

Tabla 1-4: Composición fisicoquímica en base húmeda de quesos frescos: queso panela, queso campesino y cuajada.

Parámetro	Queso panela (Ramírez-López et al., 2012)	Queso campesino (Novoa et al., 1995)	Cuajada*
Humedad (%)	53.2 – 58.3	58-60	65.5-68-5
Grasa (%)	18.8 – 12.1	17-19	17-19
Proteína (%)	18.4 – 20.5	16-18	16.05-17.66
pH	5.6 – 6.4	6.2-6.6	6.6-6.8

* Los valores para cuajada corresponden a los determinados en laboratorio en una cuajada comercial tal como se explica en el numeral 3.3.2. El valor de grasa para cuajada es el reportado por Tabares et al. (2009).

En la tabla 1-5 se presentan los requisitos fisicoquímicos para queso establecidos en la Norma Técnica Colombiana 750 del ICONTEC (2009) y la Resolución 1804 del Ministerio de Salud (1989) para su clasificación según consistencia y contenido grasa.

Tabla 1-5: Requisitos fisicoquímicos para el queso.

Designación según su consistencia	Humedad sin materia grasa (HSMG) % m/m		Resolución 1804 de 1989
Extraduro	<50.0	40	Duro
Duro	50-55	55	Semiduro
Firme/ Semiduro	56-68	65	Semiblando
Blando	>68	80	Blando
Designación según su contenido de materia grasa	Materia Grasa en extracto seco (GES) % m/m		Resolución 1804 de 1989
Extragraso	≥60.	60	Rico en grasa
Graso	≥45 - <60	45	Graso
Semigraso	≥25 - <45	20	Semigraso
Semidescremado	≥10 - <25	5	Semimagro

Descremado

<10

0.1

Magro

2. Objetivos

2.1 Objetivo general

- Evaluar la inclusión de oligosacáridos de avena y de *Lactobacillus casei* subsp. *ramnosus* como probiótico en quesos frescos tipo cuajada y panela.

2.2 Objetivos específicos

- Evaluar dos métodos de extracción de oligosacáridos de avena: método convencional y método asistido por ultrasonido.
- Determinar el efecto de la inclusión de oligosacáridos de avena en diferentes concentraciones sobre las propiedades fisicoquímicas y sensoriales instrumentales de un queso fresco tipo cuajada.
- Determinar el efecto de la inclusión de oligosacáridos de la avena y de *Lactobacillus casei* subsp. *ramnosus* como probiótico sobre la estabilidad de almacenamiento de queso fresco tipo panela.

3. Materiales y métodos

3.1 Materiales

- Avena integral comercial marca Granvita adquirida en un supermercado cercano a la Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa en la Ciudad de México.
- Leche fresca bovina de la raza Normando obtenida en el hato lechero de la Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá.
- Oligosacáridos extraídos de la avena integral comercial.
- Renina Maxiren® 1800 Granulate.
- Sal de cocina.
- Cultivo probiótico de *Lactobacillus casei* subsp. *ramnosus*, liofilizado y listo para inoculación directa. Laboratorio Igea dairy cultures ©.

3.2 Equipos

- Centrifuga Beckman J2 MI
- Centrifuga de Gerber
- Potenciómetro Conductronic pH 120
- Procesador de ultrasonido Sonics Vibra cell
- Espectrofotómetro UV-Vis (Genesys 20 Thermo Scientific)
- Termómetro
- Destilador Kjeldahl
- Texturómetro TA-XT plus
- Colorímetro ColorQuestXE (CIELab)
- Empacadora de vacío Henko AC Table Top 1500

3.3 Métodos

3.3.1 Extracción de oligosacáridos de avena por método convencional

De acuerdo con la metodología de Temelli (1997), se molió y se tamizó la avena con el fin de obtener harina. De dicha harina se tomaron 20 g y se suspendieron en 200 mL de agua destilada, para lo cual se utilizó una plancha y un agitador magnético.

Una vez se tuvo la suspensión, se procedió a ajustar el pH a 7.0 con una solución de carbonato de sodio 20% (p/v). Posteriormente se calentó la suspensión hasta alcanzar una temperatura de 55 °C, y se dejó en agitación por media hora (Ilustración 3-1 A)). Transcurrido este tiempo, se transfirió a botellas y se centrifugó por 15 minutos a 15000 g. Al sobrenadante obtenido de este proceso, se le ajustó el pH a 4,5 con solución de HCl 2M con el fin de precipitar proteínas, y luego se centrifugó durante 20 minutos a 21000 g a 4 °C. Posteriormente, se retiró el sobrenadante y se precipitó con un volumen igual de etanol absoluto y se dejó en reposo durante una noche bajo refrigeración (Ilustración 3-1. B)). Al siguiente día el precipitado se recuperó por medio de centrifugación durante 15 minutos a 4600 g y 4 °C. El pellet obtenido se puso a secar en un horno de convección durante 3 horas a 80 °C. Pasado este tiempo, se extrajo, se transfirió al desecador hasta alcanzar temperatura ambiente, y se pesó con el fin de calcular el rendimiento del proceso de extracción, por medio de la siguiente fórmula.

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{\text{Peso del pellet seco extraído (g)}}{\text{Peso muestra harina de avena (g)}} * 100$$

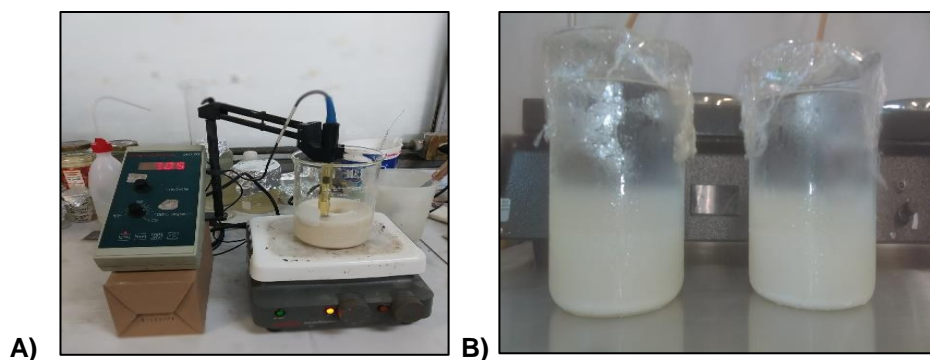


Ilustración 3-1: **A)** Agitación y calentamiento de la suspensión de avena en agua durante la extracción por el método convencional. **B)** Precipitación de los oligosacáridos de avena en etanol.

3.3.2 Extracción de oligosacáridos de avena por método asistido por ultrasonido

Se utilizó el procesador de ultrasonido de 130 W con una sonda de 6 mm de amplitud máxima de 114 μm , y con una frecuencia de 20 MHz. A partir de experiencias previas por parte del equipo del Departamento de Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana, se decidió fijar la amplitud en 80% (104 W 91.2 μm) y evaluar dos tiempos de extracción, 15 y 30 minutos; así como dos condiciones de temperatura; una controlada (a 20 y 55°C), y otra sin control de la misma (partiendo de 20 °C), para cada tiempo. Para cada muestra, también se suspendieron 20 g de harina de avena previamente molida, se suspendieron en 200 ml de agua destilada, y se dejaron en agitación durante 10 minutos. Posteriormente, se introdujo la sonda del equipo de ultrasonido, y se aplicó el tratamiento correspondiente a cada muestra (Ilustración 3-2 A). Seguido, se transfirió la solución a las botellas para su centrifugación, y a partir de este punto se realizó el mismo procedimiento empleado en el método convencional de extracción por calor hasta obtener los pellets que fueron secados (Ilustración 3-2 B).

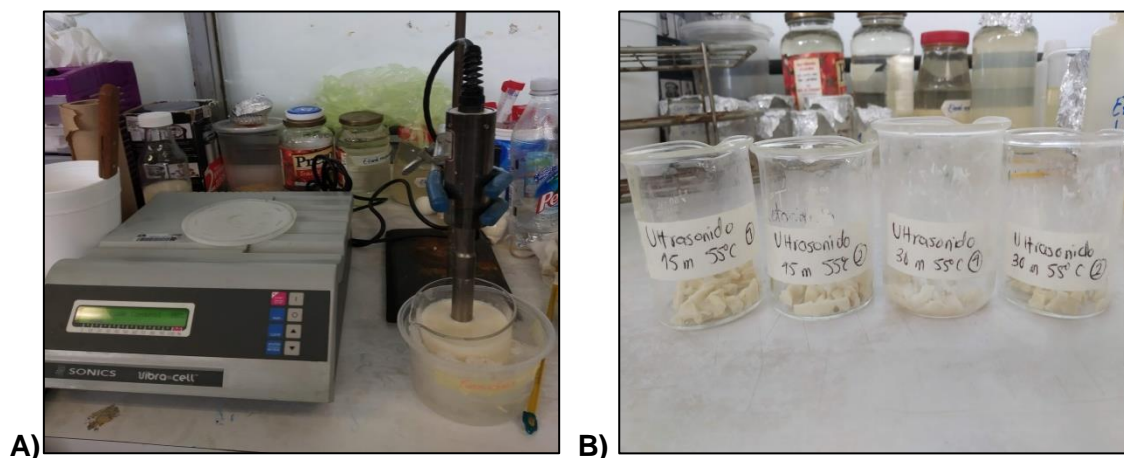


Ilustración 3-2: A) Aplicación del ultrasonido a la suspensión de harina de avena en agua. **B)** Pellets obtenidos de la extracción antes del secado.

En la tabla 3-1 se resumen los métodos de extracción evaluados: convencional y con aplicación de ultrasonido.

Tabla 3-1: Métodos de extracción de oligosacáridos de avena evaluados.

Método de extracción	Temperatura (°C)	Tiempo (minutos)	Características
Convencional	55	30	Extracción con agua caliente
EAU-15m-SCT	SCT	15	EAU iniciando en 20 °C y alcanzando los 42 °C ± 2 °C
EAU-15m-20°C	20	15	EAU a 20 °C ± 2 °C
EAU-30m-SCT	SCT	30	EAU iniciando en 20 °C y alcanzando los 55 °C ± 2 °C
EAU-30m-20°C	20	30	EAU a 20 °C ± 2 °C
EAU-15m-55°C	55	15	EAU a 55 °C ± 2 °C
EAU-30m-55°C	55	30	EAU a 55 °C ± 2 °C

EAU: Extracción asistida por ultrasonido; SCT: sin control de temperatura

3.3.3 Cuantificación de azúcares totales

Se pesó 1 mg del pellet seco para cada tratamiento por triplicado, y se adicionó 1 mL de agua destilada. Los tubos eppendorf se colocaron a baño de maría a 60 °C por tres horas, y se agitaron cada 15 minutos en aras de disolver completamente el pellet.

Con el fin de poder leer posteriormente en el espectrofotómetro se diluyó la muestra, para lo cual se tomaron 50 µL de la solución obtenida previamente, y se aforó a 1 mL con agua destilada, para finalmente ser transferida a un tubo de ensayo. Allí se adicionó 1 mL de fenol al 5% en agua destilada y 5 mL de ácido sulfúrico concentrado (Meyer 98.08%) lentamente por las paredes del tubo, y se agitó vigorosamente para facilitar la reacción. Después de dejar enfriar los tubos por 15 minutos, se procedió a medir las absorbancias en un espectrofotómetro UV-Vis a una longitud de onda de 490 nm. Finalmente, para la cuantificación de azúcares totales se empleó una curva patrón de glucosa (Figura 3-1) elaborada previamente por Espinosa-Montesinos (2018).

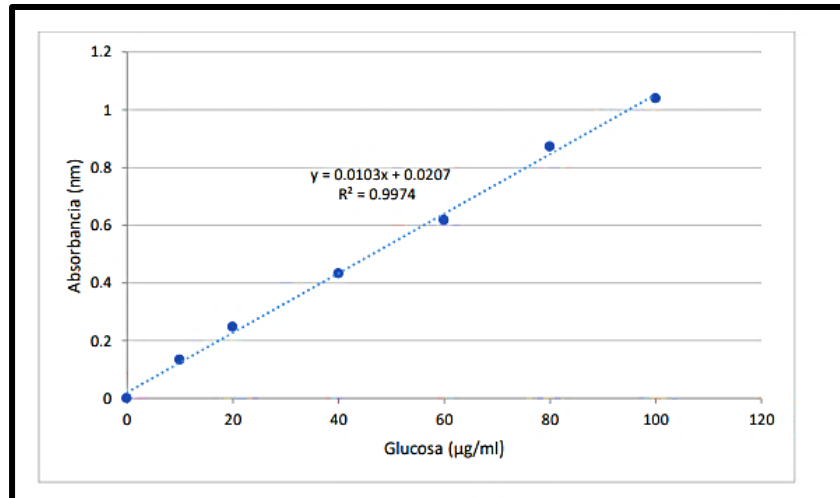


Figura 3-1: Curva de calibración de glucosa para la cuantificación de azúcares totales a una longitud de onda de 490 nm.

3.3.4 Cuantificación de proteína

Para la determinación de la proteína extraída como parte de las impurezas, por ambos métodos de extracción, tanto convencional como ultrasonido, se empleó el método de Bradford. Para ello se tomaron 12 µL de la solución de 1 mg de pellet en 1 mL de agua destilada, que previamente se preparó para la prueba de fenol sulfúrico; y se aforó a 1 mL con agua destilada. Se agitó la muestra en un vórtex para lograr homogeneidad y posteriormente se agregó 1 mL del reactivo de Bradford, se dejó reposar en oscuridad por 5 minutos y finalmente se registraron las absorbancias en un espectrofotómetro UV-Vis a una longitud de onda de 595 nm. Para la cuantificación de proteína se utilizó una curva patrón de seroalbúmina (Figura 3-2), elaborada previamente por Espinosa-Montesinos (2018).

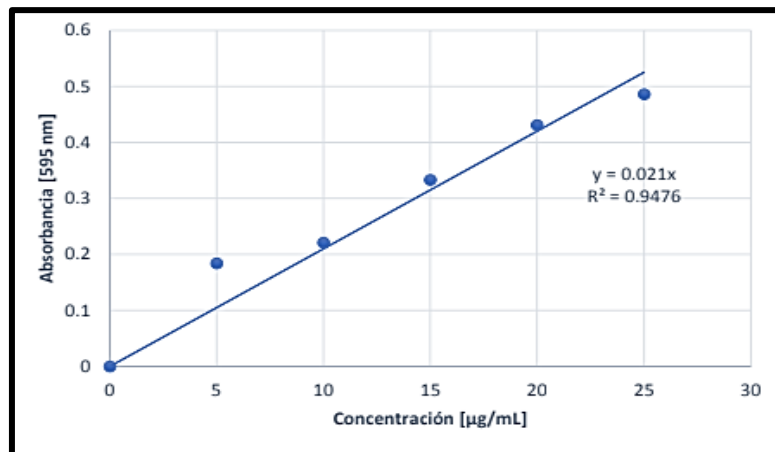


Figura 3-2: Curva patrón de seroalbúmina bovina para la cuantificación de proteína por Método de Bradford a una longitud de onda de 595 nm.

3.3.5 Elaboración de las cuajadas

Las cuajadas se elaboraron a partir de leche bovina fresca obtenida del hato de raza Normando de la Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá. La leche fue filtrada, se estandarizó en su contenido graso a 2.5% a 35 °C. Las cantidades de leche descremada y entera se determinaron por medio de balance de materia. En la figura 3-3 se presenta el flujo de proceso ejecutado para la elaboración de las diferentes cuajadas.

Como la disponibilidad de oligosacáridos de avena estuvo limitada por el rendimiento de extracción, y por ende por la cantidad obtenida, para cada triplicado de cada cuajada (control, 0.25, 0.50 y 0.75% de oligosacáridos p/v de leche utilizada) se partió de 450 mL de leche filtrada, estandarizada y pasteurizada a 68 °C por 10 minutos. La adición de los oligosacáridos de avena se realizó pasado el tiempo de pasteurización. Para ello se utilizó una licuadora con el fin de garantizar su incorporación en la leche. El tiempo de licuado fue de 5 minutos para cada una de las unidades experimentales.

Después se dejó enfriar la leche hasta los 35 °C, agitándola periódicamente para evitar la separación de la grasa. Una vez alcanzada esta temperatura se agregó el CaCl_2 a razón de 0.15 g/L de leche. Inmediatamente después se agregaron 0.9 mL de solución de cuajo previamente preparada. Esta solución se preparó con el fin de disminuir el error debido a que las unidades experimentales eran muy pequeñas, y se debía agregar el cuajo a razón de 20 mg/L de leche. Para ello se pesaron 0.5 g de renina y se disolvieron en 50mL de agua destilada.

La coagulación se llevó a cabo durante 40 minutos y se controló la temperatura de la leche en 32 °C. Una vez pasado este tiempo, se cortó la cuajada en cuadros de 1x1x1 cm y se dejó en reposo por 5 minutos. Luego se agitó la cuajada lentamente por 30 minutos, incrementando la temperatura hasta 37 °C, y luego a 39 °C por 10 minutos, con el fin de lograr el desuerado. Por último, se retiró el suero restante y se llevó la cuajada al molde plástico. Las cuajadas se almacenaron en cuarto frío a temperatura de 4 °C.

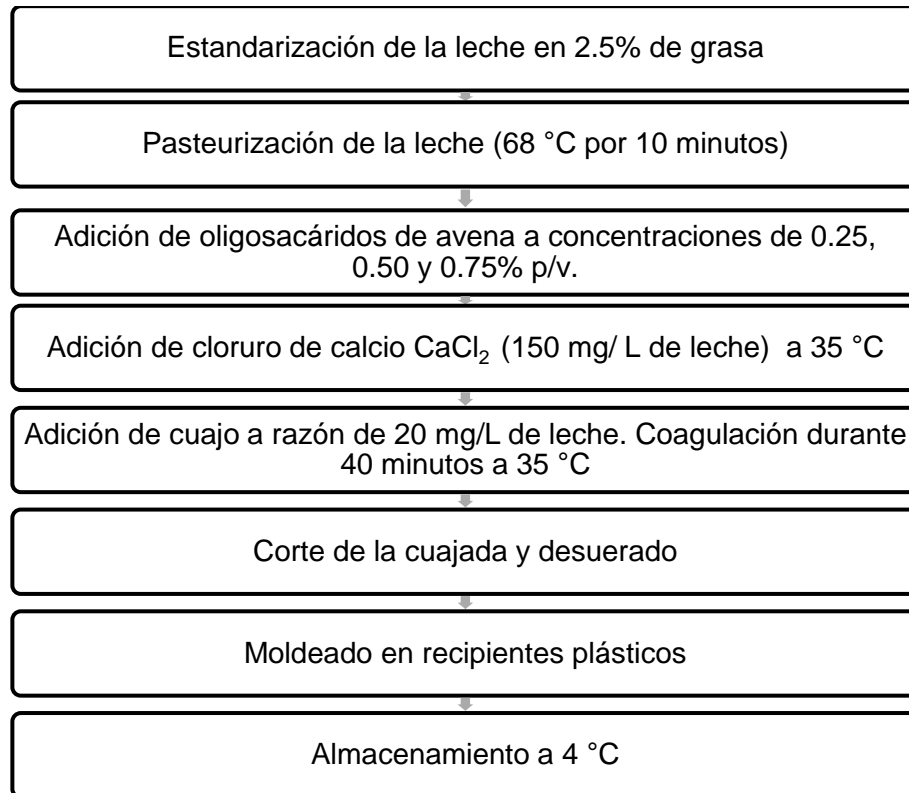


Figura 3-3: Flujo de proceso de elaboración de las formulaciones de cuajada.

Como en la literatura se encuentra muy poca información acerca de la cuajada, debido a que es un producto mayoritariamente artesanal, se compró una cuajada de tipo comercial, y se le realizaron los mismos análisis fisicoquímicos descritos en el numeral 3.3.6, de color descritos en el numeral 3.3.8 y de textura del numeral 3.3.9. Lo anterior, con el fin de compararlos con los resultados obtenidos en las cuajadas evaluadas.

3.3.6 Análisis fisicoquímicos

Para cada formulación de cuajada establecida en el diseño experimental se determinaron por triplicado las siguientes variables fisicoquímicas: Humedad, cenizas, proteína, grasa, pH y acidez; y se siguieron los procedimientos descritos a continuación:

- **Rendimiento**

Se calculó el rendimiento de las diferentes cuajadas elaboradas utilizando la siguiente fórmula, que relaciona el peso final de la cuajada, con el peso de la leche utilizada para su elaboración.

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{\text{Peso de la cuajada}}{\text{Peso de la leche}} \times 100$$

Asimismo, el rendimiento fue ajustado por el contenido de humedad de las cuajadas, para lo cual se empleó la siguiente fórmula.

$$\begin{aligned} &\text{Rendimiento ajustado por humedad (\%)} \\ &= \text{Rendimiento obtenido} \times \left(\frac{(100 - \text{Humedad obtenida (\%)})}{(100 - \text{Humedad de referencia (\%)})} \right) \end{aligned}$$

- **Humedad**

La humedad de las cuajadas se determinó por medio del método 926.08 AOAC (2000). Para ello se pesaron 3 g de cada cuajada y se depositaron en cápsulas de porcelana previamente secadas y pesadas. Se llevaron las muestras a un horno de secado a 105° C hasta obtener un peso constante. Por último, se calculó el contenido de humedad (%) empleando la siguiente fórmula:

$$\text{Humedad (\%)} = \frac{\text{Peso de la cápsula con muestra (g)} - \text{Peso de la cápsula con muestra seca (g)}}{\text{Peso de la muestra (g)}} \times 100$$

Igualmente, con el fin de clasificar las cuajadas en relación con su consistencia, y según los requisitos fisicoquímicos para queso establecidos en la NTC 750, se calculó la humedad sin materia grasa (HSMG) a partir de la siguiente ecuación:

$$\text{HSMG (\%)} = \frac{\text{Humedad de la cuajada (\%)}}{100 - \text{grasa en la cuajada (\%)}} \times 100$$

- **Cenizas**

El contenido de cenizas de las cuajadas se determinó de acuerdo con el método 935.42 AOAC (2000). Para esto, se pesaron 3 g de cada cuajada y se depositaron en crisoles previamente secados y pesados, y se llevaron a la mufla a 550° C durante una noche. Finalmente se registró el peso y se realizó el cálculo de cenizas utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Cenizas (\%)} = \frac{\text{Peso del crisol con cenizas (g)} - \text{Peso del crisol vacío (g)}}{\text{Peso de la muestra (g)}} \times 100$$

- **Grasa**

El contenido de grasa se cuantificó por medio del método de Gerber (Kavas et al., 2004). Se pesaron 3 g de cuajada en la cápsula, la cual se introdujo en el butirómetro para quesos. Se agregaron 10 mL de ácido sulfúrico, seguidos de 5 mL de agua caliente y 1 mL de alcohol isoamílico. Posteriormente se agregó agua caliente hasta 5 mm por debajo del hombro del butirómetro, y se agitó para lograr la digestión de la muestra. Se dejó en baño de María a 65 °C por 5 minutos, y finalmente se centrifugó la mezcla durante 5 minutos a 1200 rpm y 65 °C, y se tomó la lectura.

- **Proteína**

El contenido de proteína de las cuajadas se determinó de acuerdo con el método de Kjeldhal AOAC (2000). Se realizó la digestión catalítica de 1.5 g de muestra en ácido sulfúrico, luego se realizó una destilación con hidróxido de sodio (NaOH), y se recogió el destilado en una solución de ácido bórico al 4%, para su posterior titulación con HCl 0.1N. Los cálculos del contenido de nitrógeno en la muestra, y el correspondiente contenido de proteína se realizaron siguiendo las fórmulas a continuación, y como factor de conversión 6.38.

$$\text{Nitrógeno (\%)} = V * N \frac{14}{1000} * \frac{100}{\text{peso de la muestra (g)}}$$

$$\text{Proteína (\%)} = \text{Nitrógeno(\%)} * F$$

Donde V es el volumen gastado de HCl (ml), N la normalidad del HCl, y F el factor de conversión de proteína.

- **pH**

El pH de las cuajadas se estableció de acuerdo con la metodología de López, et al. (2015), para lo cual se tomaron 5 g de muestra y se trituraron. Luego se añadieron 10 mL de agua destilada y se agitó vigorosamente. Finalmente, la lectura de pH se realizó con el potenciómetro previamente calibrado con buffers de pH 4 y 7.

- **Acidez**

La acidez de las cuajadas se determinó de acuerdo con la metodología de Ramírez-López et al. (2012). Se pesaron 10 g de cuajada previamente triturada y se llevaron a un matraz con 100 mL de agua destilada y se agitó vigorosamente. Se adicionaron 2 gotas de fenolftaleína, y se tituló con NaOH 0.1 N. El cálculo de acidez se realizó por medio de la siguiente fórmula:

$$\text{Acidez (\%)(eq. ácido láctico)} = \frac{V \text{ NaOH (mL)} * N \text{ NaOH} * \text{Peso eq. ácido láctico (g)}}{\text{Peso de muestra (g)} * 1000} * 100$$

Donde V es volumen gastado de NaOH en la titulación y N normalidad del NaOH.

3.3.7 Cuantificación de oligosacáridos retenidos en la cuajada

Se realizó la cuantificación de oligosacáridos de avena retenidos en la cuajada por medio del método espectrofotométrico de turbidez, adaptado de la metodología de Cagno et al. (2014) para cuantificación de exopolisacáridos en queso. Para ello se pesó 1 g de cuajada, se le adicionaron 10 mL de agua destilada y se homogeneizó. Luego se tomaron 6 mL de la solución, se adicionó 1 mL de ácido tricloroacético al 80% con el fin de precipitar proteínas, se agitó y se dejó reposar por 15 minutos. Pasado este tiempo, se centrifugó por 30 minutos a 10000 rpm a 4 °C. Se tomaron 2 mL de sobrenadante, se les adicionaron 2 mL de alcohol absoluto, se agitaron y se dejaron reposar por 20 minutos. Finalmente, se realizó la lectura de absorbancia a 720 nm y se realizó el cálculo de la concentración de oligosacáridos con la curva patrón de inulina elaborada previamente por (Espinosa-Montesinos, 2018) (Figura 3-4), y de la retención de oligosacáridos en la cuajada a partir de las ecuaciones descritas a continuación:

$$1) \text{ Concentración } \left(\frac{\text{mg oligosacáridos}}{\text{g cuajada}} \right) = \left(\frac{y}{0.2339} \right) * 2 * 10$$

Dónde: 2 es el factor de dilución en etanol y 10 es el factor de dilución de la muestra inicial en agua.

$$\text{Retención de oligosacáridos en cuajada (\%)} = \frac{\text{Oligosacáridos retenidos (mg)}}{\text{Oligosacáridos adicionados (mg)}}$$

Los miligramos totales retenidos en las cuajadas se calcularon por medio de la multiplicación entre los mg de oligosacáridos/g de cuajada y el peso final de la cuajada; y los mg adicionados a la cuajada fueron calculados a partir de las concentraciones de 0.25, 0.50 y 0.75% de inclusión.

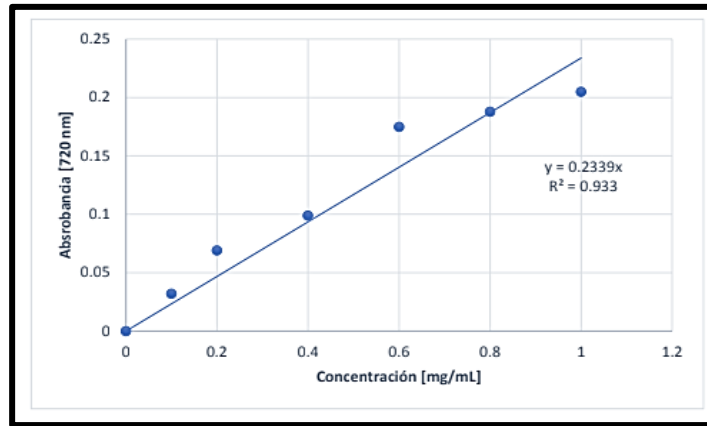


Figura 3-4: Curva patrón de inulina para cuantificación de oligosacáridos de avena.

3.3.8 Color

Las determinaciones de color de las cuajadas se realizaron sobre la superficie de estas, por medio de un colorímetro ColorQuest XE y utilizando el espacio CIELab, el iluminante D65 y el observador estándar de 10°, según la metodología señalada por Saraiva et al. (2019). Se registraron las coordenadas colorimétricas de luminosidad (L^*), índice verde-rojo ($-a^*$, $+a^*$) e índice azul-amarillo ($-b^*$, $+b^*$).

3.3.9 Análisis de perfil de textura

El análisis del perfil de textura de las cuajadas se realizó por medio de un texturómetro TA-XT plus (Ilustración 3-3). Para ello se empleó una sonda de 75 mm de diámetro, y cubos de cuajada de 2.5 cm de largo y ancho y 2 cm de altura. Las condiciones para la

prueba fueron: distancia de compresión de 10 mm, velocidad pre-test de 1.0 mm/s, velocidad del test de 2.0 mm/s, velocidad pos-test de 2.0 mm/s, tiempo de reposo entre ciclos de 5 s y fuerza de disparo de 1N. Los parámetros registrados fueron dureza (N), elasticidad, cohesividad y masticabilidad (N) (Bourne, 2002).

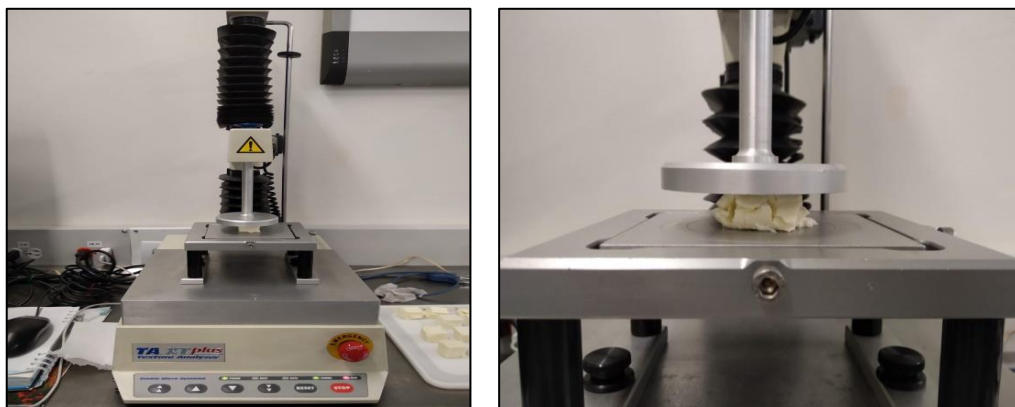


Ilustración 3-3: Análisis de perfil de textura (TPA) de los quesos.

3.3.10 Análisis de estabilidad en almacenamiento

Se evaluó la estabilidad en almacenamiento en queso panela con la inclusión del probiótico *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*; y de acuerdo con los resultados obtenidos a partir del estudio de la cuajada con respecto a la evaluación de inclusión de oligosacáridos de avena en diferentes concentraciones, se eligió solo la inclusión de 0.25% de oligosacáridos de avena. En la tabla 3-2 se presentan los dos tratamientos evaluados a los días 1, 7, 14 y 21 de almacenamiento en condiciones de refrigeración (4°C) y empacado al vacío.

Tabla 3-2: Quesos panelas evaluados en su estabilidad en almacenamiento.

Tratamiento	Características
Control	Queso panela con 0% de inclusión de oligosacáridos de avena + probiótico
0.25% + probiótico	Queso panela con 0.25% de inclusión de oligosacáridos de avena + probiótico

Para ello se elaboraron tres quesos por tratamiento siguiendo la metodología descrita en el numeral 3.3.5, con ligeras modificaciones. La primera modificación al procedimiento de elaboración fue la inclusión del probiótico *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*. Como se observa en la figura 3-5, una vez se pasteurizó la leche a 68°C durante 10 minutos, se dejó enfriar hasta los 35 °C, temperatura a la cual se agregó el probiótico a una concentración de 3×10^8 UFC/mL. Por otra parte, de acuerdo con la disponibilidad del extracto de oligosacáridos de avena, se partió de 600 mL de leche para cada uno de los quesos, y con base en este volumen se calcularon las cantidades de oligosacáridos y probiótico agregadas.

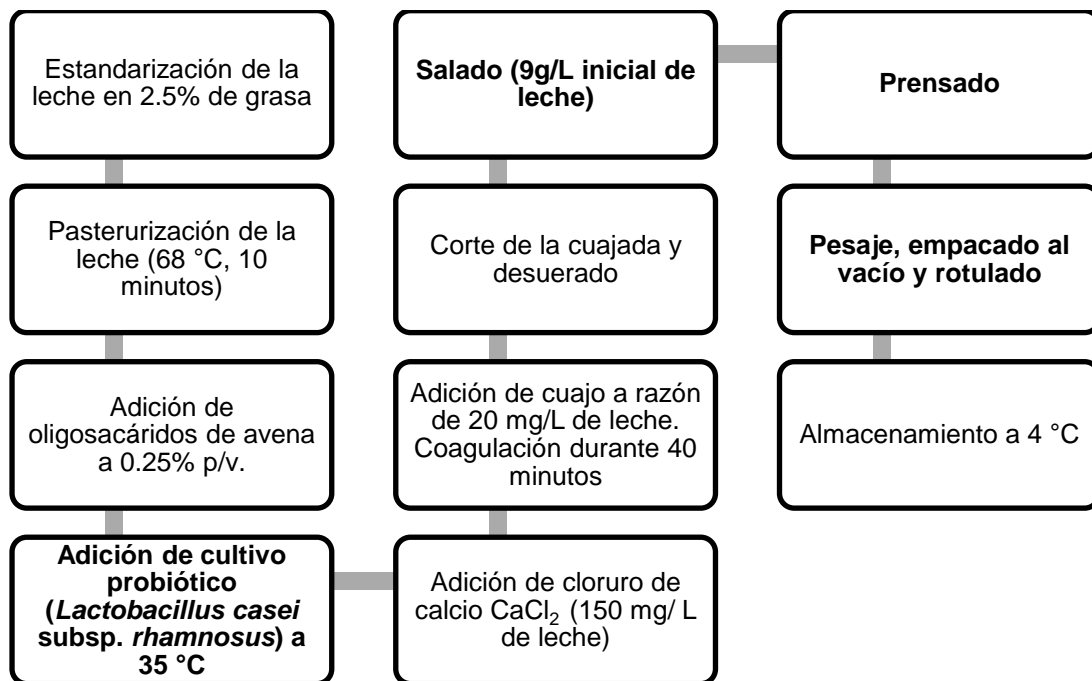


Figura 3-5: Proceso de elaboración de quesos panelas para el análisis de estabilidad en almacenamiento.

Finalmente, cada queso fue pesado, dividido en cuatro partes de igual peso (correspondientes a cada día de medición), empacado al vacío y rotulado con el nombre del queso, la fecha de elaboración, y la fecha respectiva de medición (Ilustración 3-4).

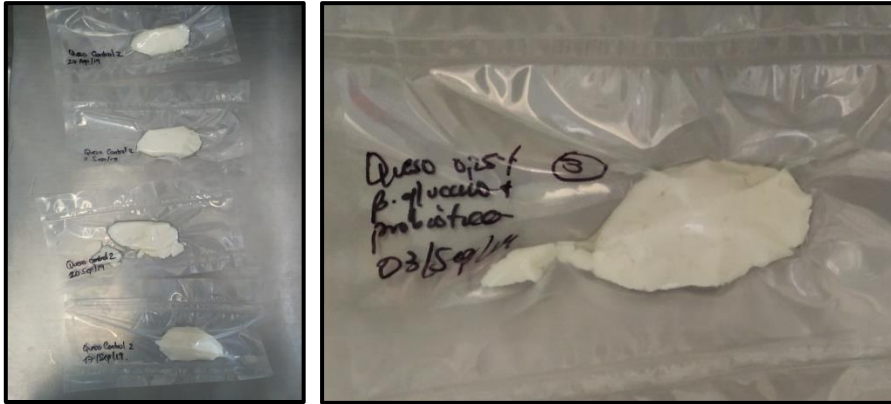


Ilustración 3-4: Empacado al vacío de los quesos panelas para análisis de estabilidad en almacenamiento.

En la figura 3-6 se resumen los análisis fisicoquímicos, microbiológicos y sensorial instrumental realizados a los quesos tipo panela.

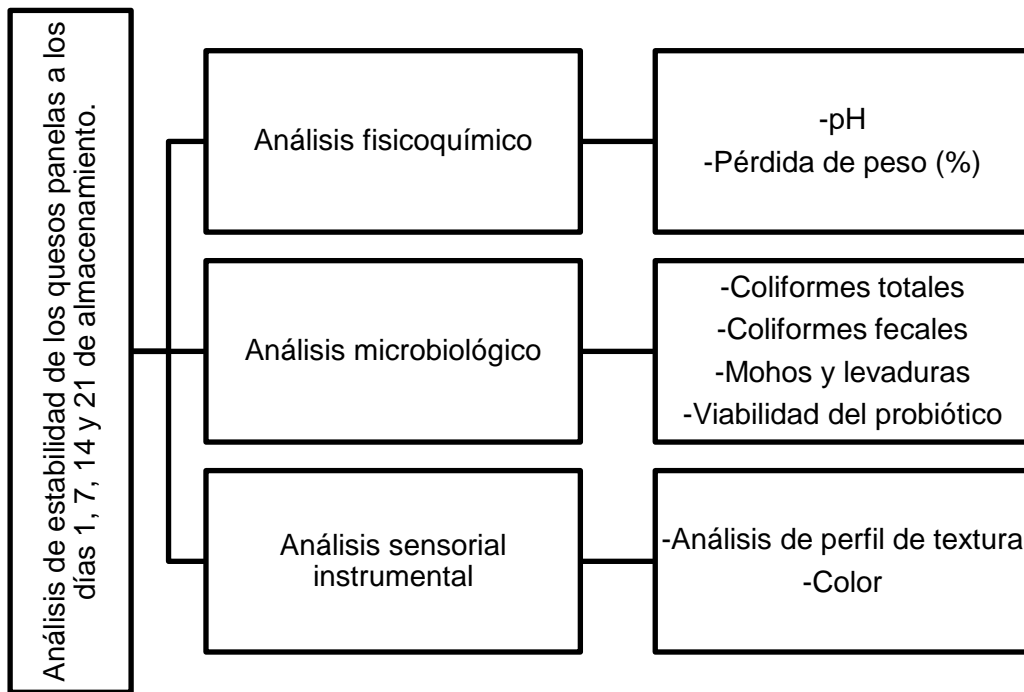


Figura 3-6: Análisis de estabilidad en almacenamiento de los quesos panelas.

3.3.11 Análisis fisicoquímico en almacenamiento

- pH

El pH de los quesos se determinó de la misma manera descrita en el numeral 3.3.6 de acuerdo con la metodología de López, et al. (2015). Se pesaron 5 g de muestra y se trituraron, se mezclaron con 10 mL de agua destilada y agitó vigorosamente. Finalmente, se sumergió el electrodo del potenciómetro en la suspensión y se realizó la lectura.

- Pérdida de peso (%)

La pérdida de peso en almacenamiento se determinó por medio del pesaje de los quesos en una balanza analítica, de acuerdo con la metodología reportada por Cerqueira et al. (2010). Para ello durante cada día de medición en almacenamiento (1, 7, 14 y 21 días) se pesó cada uno de los quesos y posteriormente por medio de la siguiente ecuación se calculó la pérdida de peso.

$$\text{Pérdida de peso (\%)} = \frac{P_i - P_n}{P_i}$$

Dónde: P_i es el peso inicial del queso, es decir, una vez elaborado y P_n es el peso del queso a los n días de almacenamiento.

3.3.12 Análisis microbiológico

Para las tres pruebas de microbiología realizadas a los quesos se partió de una dilución 10^{-1} . Para ello se pesaron 11 g de muestra de queso empacado al vacío y se agregaron a 99 mL de agua peptonada al 0.1%, se agitó vigorosamente y se dejó reposar. Posteriormente se prepararon diluciones consecutivas hasta 10^{-8} , para lo cual se tomó 1 mL de la solución 10^{-1} y se transfirió a un tubo que contenía 9 mL de agua peptonada para obtener la dilución de 10^{-2} . De igual manera se repitió hasta obtener la dilución final requerida. Finalmente, todo el material fue esterilizado en autoclave a una temperatura de 121 °C durante 15 minutos.

Los resultados de los análisis de coliformes totales, coliformes fecales y mohos y levaduras se compararon con los requisitos microbiológicos para queso fresco establecidos en la NTC 750 (ICONTEC, 2009), que se encuentran registrados en la tabla 3-3.

Tabla 3-3: Requisitos microbiológicos para queso fresco.

Requisitos	n	m	M	c
Coliformes totales a 35 °C (UFC/g)	3	1000	5000	1
Coliformes fecales a 45 °C (UFC/g)	3	<100	-	0
Recuento de mohos y levaduras, UFC/ g	5	100	500	1

n: número de muestras por examinar
m: índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad
M: índice máximo permisible para identificar nivel de calidad aceptable
c: número máximo de muestras permitidas entre m y M

▪ Coliformes totales

La determinación del número más probable de coliformes totales se realizó por medio de del método Invima N° 13 (Ministerio de Salud y Protección Social, 1998). Para esta prueba presuntiva se tomó una alícuota de 1 mL de la dilución de queso 10^{-1} previamente preparada y se transfirió a un tubo con 10 mL de caldo lactosado bilis verde brillante (Caldo Brila). Así se hizo para cada tubo hasta la dilución de 10^{-3} , y se utilizaron tres tubos por dilución, cada uno con su respectiva campana de Durham estéril. Por último, se homogeneizó adecuadamente la mezcla, y se incubaron los tubos a $35\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ durante 48 horas.

Pasado este tiempo se procedió a realizar la lectura de los tubos, siendo positivos para coliformes totales aquellos en los que hubo producción de gas y turbidez. A estos tubos se les realizó una prueba confirmativa, en la cual con un asa bacteriológica se sembró en agar EMB y se incubaron las cajas de petri a $35\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ durante 48 horas. Asimismo, se les realizó la prueba de coliformes fecales.

▪ Coliformes fecales

La determinación de coliformes fecales se realizó por el método Invima N° 14 de número más probable (NMP) (Ministerio de Salud y Protección Social, 1998). Con un asa bacteriológica se transfirió una alícuota de cada tubo con resultado positivo para la prueba presuntiva de coliformes totales a un nuevo tubo con caldo Brila (caldo lactosado verde bilis brillante) y campana de Durham, así como una alícuota a un tubo con caldo triptófano. Se agitaron e incubaron a $44.5\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ durante 48 horas en baño de agua con rotación.

- **Mohos y levaduras**

El recuento de mohos y levaduras se llevó a cabo según el método Invima N° 7 (Ministerio de Salud y Protección Social, 1998). Se partió de la dilución 10^{-1} preparada previamente para obtener diluciones hasta 10^{-3} y se sembró una alícuota de 1 mL en cajas de petri estériles marcadas con la respectiva dilución. Se vertieron aproximadamente 15 mL de agar OGY (Oxitetracycline glucose yeast extract) a 45 °C, al cual previamente se había añadido el suplemento de oxitetraciclina. Posteriormente, se mezcló adecuadamente el inóculo con el medio y se dejó reposar hasta lograr su gelificación. Por último, las cajas invertidas se incubaron a 22 °C \pm 2 °C durante 7 días, tiempo al cual se realizó el recuento de UFC y se compararon los resultados con los valores permitidos para quesos frescos presentados en la tabla 3-3.

3.3.13 Viabilidad del probiótico

La viabilidad del probiótico se determinó por medio del recuento de UFC en placa, y se siguió la metodología suministrada por la empresa productora del probiótico. Para ello se realizaron diluciones seriales hasta 10^{-8} y se sembró una alícuota de 1 mL en igual número de cajas marcadas con la respectiva dilución. Posteriormente, se vertieron aproximadamente 15 mL de agar MRS a 45 °C, se mezcló adecuadamente con el inóculo y se dejó reposar hasta lograda la gelificación. Finalmente, las cajas invertidas fueron colocadas en jarras de anaerobiosis y fueron incubadas a temperatura de 35 °C \pm 2 °C durante 48 horas. Pasado este tiempo se realizó el conteo de las UFC/g de queso.

3.3.14 Análisis sensorial instrumental

- **Análisis de perfil de textura**

El análisis del perfil de textura de los quesos se realizó a los días 0, 7, 14 y 21 de almacenamiento por medio de un texturómetro TA-XT plus (Figura 3-6). Las muestras fueron dejadas 30 minutos a temperatura ambiente y luego desempacadas. Se empleó una sonda de 75 mm de diámetro, y los cubos de queso fueron de 1.2 cm de largo x 1.2 cm de ancho x 0.7 cm de altura. Las condiciones para la prueba fueron: distancia de compresión de 10 mm, velocidad pre-test de 1.0 mm/s, velocidad del test de 2.0 mm/s, velocidad pos-test de 2.0 mm/s, tiempo de reposo entre ciclos de 5 s y fuerza de disparo

de 1N. De igual manera que en el numeral 3.3.9, se midieron la dureza (N), elasticidad, cohesividad y masticabilidad (N) de los quesos (Bourne, 2002).

▪ **Color**

Las determinaciones de color de los quesos se realizaron a los días 0, 7, 14 y 21 de almacenamiento por medio de un colorímetro ColorQuest XE y utilizando el espacio CIELab, el iluminante D65 y el observador estándar de 10°. Al igual que en el numeral 3.3.8, se registraron las coordenadas colorimétricas de luminosidad (L^*), índice verde-rojo ($-a^*$, $+a^*$) e índice azul-amarillo ($-b^*$, $+b^*$), según la metodología de Saraiva et al. (2019).

3.4 Diseño experimental y análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos se realizó por medio de análisis de varianza (ANOVA) bajo un arreglo factorial simple con diseño completamente aleatorizado con tres repeticiones por tratamiento, y por tanto las respectivas unidades experimentales para cada objetivo. En cada uno de los ANOVAS realizados se comprobó el cumplimiento de los supuestos de normalidad del error experimental y homogeneidad de varianzas.

Se trabajó con un nivel de confianza del 95%, es decir, las medias de los tratamientos se consideraron estadísticamente diferentes a un valor $p < 0.05$. En los casos en los cuales se determinaron diferencias estadísticamente significativas, se realizó una comparación de medias por medio de la prueba de Tukey, con el fin de establecer a cual o cuales de los tratamientos se debió tal diferencia.

Para el análisis de los datos se utilizó el lenguaje de programación R R version 3.4.3 y el Software libre RStudio Version 1.1.423.

4. Resultados y discusión

4.1 Extracción de oligosacáridos de avena

4.1.1 Rendimiento de extracción

En la tabla 4-1 se presentan los resultados obtenidos del rendimiento de extracción de oligosacáridos de avena de cada uno de los métodos evaluados.

El rendimiento de extracción de oligosacáridos de avena se vio significativamente afectado por el método utilizado para su obtención ($P < 0.05$). La extracción convencional presentó el menor rendimiento ($1.64 \pm 0.17 \%$); sin embargo, no presentó diferencias estadísticamente significativas con los métodos de extracción asistida por ultrasonido a $20 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 15 y 30 minutos.

El mayor rendimiento de extracción ($4.29 \pm 0.70 \%$) se obtuvo mediante extracción asistida con ultrasonido a 55°C por 30 minutos. Sin embargo, el rendimiento de extracción bajo estas condiciones de operación no fue significativamente diferente de los obtenidos con las demás extracciones asistidas con ultrasonido a $55 \text{ }^\circ\text{C}$ o sin control de temperatura.

Estos resultados indican que la aplicación de ultrasonido tuvo un efecto positivo sobre el rendimiento de extracción de oligosacáridos de avena cuando la temperatura de extracción incrementó libremente a partir de los $20 \text{ }^\circ\text{C}$ y/o se mantuvo constante a $55 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$. Lo anterior se atribuye a los efectos mecánicos causados por la cavitación, que el ultrasonido genera en el medio de extracción (C. Chen et al., 2018). El colapso y explosión de las burbujas de aire generadas durante la cavitación afectan la integridad de las paredes celulares de la avena, permitiendo una mayor penetración del solvente en las partículas, lo que favorece la transferencia de masa y la extracción de los oligosacáridos (Sourki et al., 2016).

Tabla 4-1: Rendimientos de extracción de oligosacáridos de avena en función del método de obtención.

Método de extracción	Rendimiento (%)
Convencional	1.64 ± 0.17 ^d
EAU 15 m - SCT	3.20 ± 0.85 ^{abc}
EAU 15m - 20 °C	2.28 ± 0.21 ^{cd}
EAU 30m - SCT	3.68 ± 0.46 ^{ab}
EAU 30m - 20 °C	2.81 ± 0.26 ^{bcd}
EAU 15m - 55 °C	3.87 ± 0.10 ^{ab}
EAU 30m - 55 °C	4.29 ± 0.70 ^a

Letras diferentes indican diferencia significativa (P<0.05)

4.1.2 Contenido de azúcares totales de los extractos

El contenido de azúcares totales en los extractos también se vio afectado por el método de extracción de oligosacáridos (P<0.05) (Tabla 4-2). La mayor concentración de azúcares totales se presentó en el extracto obtenido por el método convencional (80.83 ± 8.27%), el cual no fue significativamente diferente (P>0.05) del obtenido por el método de extracción asistida por ultrasonido a 55 °C y 30 minutos (70.54 ± 5.65%). Este último a su vez no presentó diferencias estadísticamente significativas (P>0.05) con los extractos obtenidos por los métodos de EAU de 30 minutos sin control de temperatura, y EAU de 15 minutos a 55°C.

Los extractos conseguidos por medio de los métodos de extracción asistida con ultrasonido con tiempo de 15 minutos sin control y con control de temperatura a 20 °C, y el de 30 minutos con control de temperatura a 20 °C presentaron los menores contenidos de azúcares.

Tabla 4-2: Contenido de azúcares totales en extractos de oligosacáridos de avena obtenidos por diferentes métodos de extracción.

Método de extracción	Azúcares totales (%)	Azúcares totales/100 g de avena
Convencional	80.83 ± 8.27 ^a	1.33 ± 0.25 ^a
EAU 15m -SCT	34.65 ± 2.49 ^c	1.12 ± 0.38 ^a
EAU 15m - 20°C	34.17 ± 3.08 ^c	0.78 ± 0.02 ^a
EAU 30m - SCT	61.86 ± 8.35 ^b	2.30 ± 0.57 ^b
EAU 30m - 20°C	38.56 ± 3.70 ^c	1.09 ± 0.17 ^a
EAU 15m - 55 °C	62.52 ± 5.64 ^b	2.42 ± 0.24 ^b
EAU 30m - 55 °C	70.54 ± 5.65 ^{ab}	3.00 ± 0.23 ^b

Letras diferentes indican diferencia significativa (P<0.05)

Estas diferencias en la concentración de azúcares totales del extracto se explican por la diferencia en las temperaturas alcanzadas. Ahmad et al. (2012) y Zielke et al. (2017) señalan que la temperatura de extracción tiene un efecto significativo sobre el rendimiento y pureza del extracto. Es por ello que los métodos de extracción en los cuales se controló la temperatura a 20 °C, y/o no se alcanzó la temperatura óptima de extracción de 55° C señalada por Temelli (1997), fueron los que presentaron menor contenido de azúcares totales.

Por otra parte, en la tabla 4-2 también se presenta el correspondiente contenido de azúcares totales en 100 g de avena; esto teniendo en cuenta el rendimiento obtenido en cada tratamiento. Se observa la existencia de diferencias significativas entre los métodos de extracción (P<0.05). Los métodos con aplicación de ultrasonido a 30 minutos sin control de temperatura y ultrasonido a 55 °C durante 30 y 15 minutos no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre ellos y fueron significativamente mayores que los demás métodos de extracción evaluados en su contenido de azúcares totales/ 100 g de avena.

Lo anterior, evidencia de nuevo que los métodos de extracción asistida con ultrasonido que mayor rendimiento de extracción obtuvieron, y cuyos extractos presentaron mayor contenido de azúcares, fueron aquellos en donde la temperatura fue alta. Asimismo, el método convencional, a pesar de obtener el mayor contenido de azúcares totales, al ser

un tratamiento de baja intensidad obtuvo un bajo rendimiento de extracción y un bajo contenido de azúcares totales (g)/100 g de avena.

4.1.3 Contenido de proteína de los extractos

Se cuantificó el contenido de proteína de los extractos obtenidos a partir de los diferentes métodos de extracción de oligosacáridos. Como se evidencia en la tabla 4-3, no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre los diferentes métodos de extracción. A pesar de ello, sí se evidencia que el método de extracción convencional, que presentó el mayor contenido de azúcares totales, fue el que menor contenido de proteína tuvo. Asimismo, el método de EAU con tiempo de aplicación de 30 minutos y temperatura controlada a 55° C tuvo el mayor contenido de proteína.

Tabla 4-3: Contenido de proteína de extractos de oligosacáridos de avena obtenidos por diferentes métodos de extracción.

Método de extracción	Contenido de proteína (%)
Convencional	3.78 ± 0.83 ^a
EAU 15m - SCT	3.98 ± 0.92 ^a
EAU 15m - 20 °C	3.26 ± 1.36 ^a
EAU 30m -SCT	4.51 ± 0.66 ^a
EAU 30m - 20 °C	4.17 ± 0.38 ^a
EAU 15m - 55 °C	4.73 ± 1.12 ^a
EAU 30m - 55 °C	5.65 ± 0.97 ^a

Letras diferentes indican diferencia significativa ($P < 0.05$)

De acuerdo con lo señalado por Ahmad et al. (2010), dependiendo del método de extracción de oligosacáridos de cereales como la avena, algunas impurezas como grasa, almidón, pentosanos y proteínas se presentan en mayor o menor cantidad en el extracto. Al comparar tres métodos de extracción (ácida, alcalina y enzimática) observaron que la mayor impureza encontrada fue el contenido de proteína, cuyos valores fueron de 5.65, 5.12 y 4.68%, respectivamente. Estos resultados se encuentran dentro del rango de contenido de proteína encontrado en los extractos obtenidos en esta investigación. Igualmente, Shah et al. (2017) utilizaron el método convencional reportado por Temelli (1997) y hallaron que a pesar de ser bajo el contenido de proteína ($1.99 \pm 1.23\%$),

también fue la mayor impureza presentada en la extracción. Si se tiene en cuenta que según la información nutricional del producto, el contenido de proteína en 100 gramos de avena es de 11 g, el contenido de proteínas encontrado en el extracto no supera el 0.03% de ese total, es decir, a pesar de que puede ser la mayor impureza en el extracto, no es significativa.

4.2 Elaboración de queso fresco tipo cuajada

Inicialmente, con base en estudios previos de inclusión de oligosacáridos en queso crema (Ningtyas et al., 2018), queso Labneh (Aydinol y Ozcan, 2018), y otros productos lácteos como yogur (Kurtuldu y Ozcan, 2018), se planteó la adición de oligosacáridos en tres concentraciones (0.5, 1.0 y 1.5% p/v) con respecto al volumen inicial de la leche para elaborar los quesos frescos. Sin embargo, en la fase preliminar de la investigación se preparó un queso fresco tipo panela con inclusión de oligosacáridos al 1%, y se observó que no hubo formación de cuajada. Por el contrario, se presentó separación de fases como se observa en la ilustración 4-1. Este fenómeno se debe a que existe incompatibilidad termodinámica entre las proteínas de la leche, específicamente las caseínas y polisacáridos como los β -glucanos, según lo señalan Sharafbafi et al. (2014). Adicionalmente, en los estudios mencionados se evaluó dicha inclusión en productos reducidos en grasa. Por tal motivo, se decidió estandarizar la leche en 2.5% de contenido graso, y se establecieron tres nuevas concentraciones de adición de oligosacáridos (0.25, 0.5 y 0.75% p/v).

Teniendo en cuenta lo anterior, se decidió elaborar un queso fresco no prensado, con el fin de reducir la pérdida de oligosacáridos en el suero. Por ello se escogió un queso tipo cuajada, que es un producto colombiano caracterizado por ser moldeado y desuerado sin ningún tipo de prensado, a diferencia de los quesos frescos como el campesino o panela.



Ilustración 4-1: Separación de fases de leche adicionada con 1% (p/v) de oligosacáridos de avena.

La adición de los oligosacáridos de avena en estas concentraciones a la leche reducida en grasa igualmente afectó la formación de la cuajada. Visualmente se presentó una separación leve de fases con las adiciones al 0.5 y 0.75% (Ilustración 4-2). Por otra parte, el corte de las cuajadas en cuadros de 1x1 cm se dificultó en las muestras con adición de oligosacáridos, pues eran menos firmes y más arenosas comparadas con el tratamiento control sin adición de oligosacáridos.

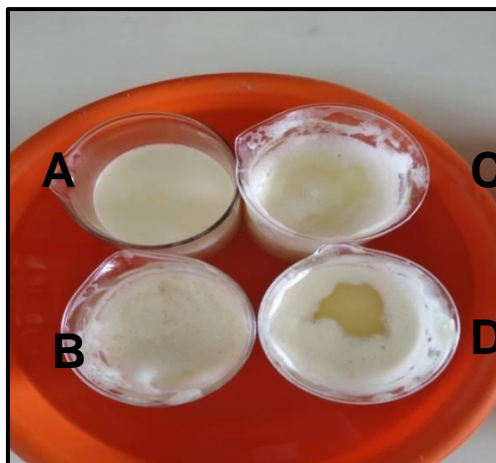
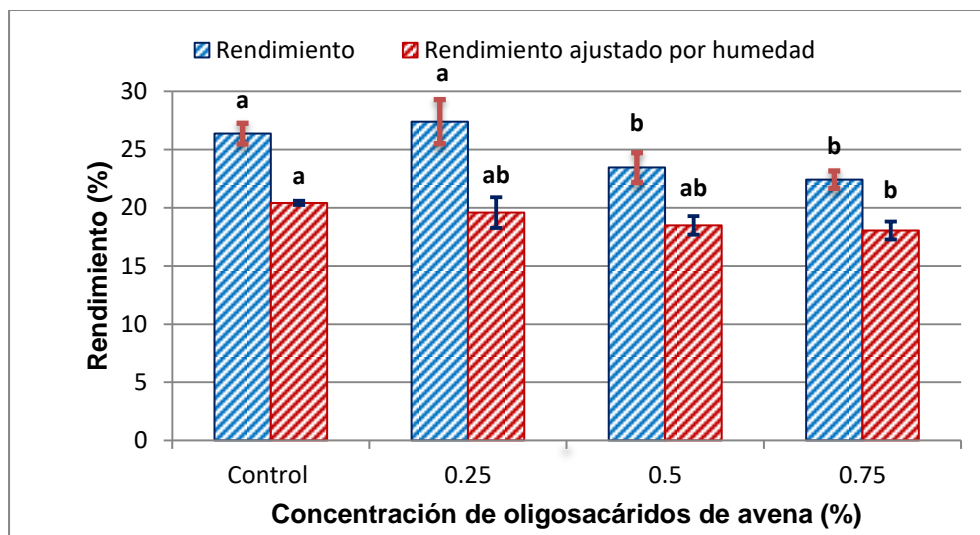


Ilustración 4-2: Aspecto de la formación de la cuajada. **A)** Cuajada sin adición de oligosacáridos de avena. **B)** Cuajada con adición de oligosacáridos de avena al 0.25%. **C)** Cuajada con adición de oligosacáridos de avena al 0.50%. **D)** Cuajada con adición de oligosacáridos de avena al 0.75%.

Este comportamiento tuvo un efecto sobre el rendimiento quesero, como se observa en la figura 4-1, pues la cuajada control y la cuajada con adición de oligosacáridos al 0.25%

presentaron diferencias significativas respecto a las cuajadas adicionadas con oligosacáridos al 0.5 y 0.75%. Las dos primeras presentaron un rendimiento promedio del 26.37 y 27.40% respectivamente; mientras que las últimas el rendimiento fue de 23.46 y 22.42%, respectivamente. Por otra parte, cuando el rendimiento se ajustó por el contenido de humedad, la cuajada con mayor inclusión de oligosacáridos (0.75%) presentó significativamente menor rendimiento (18.06%) en comparación con la cuajada control (20.41%), esto como consecuencia de una menor retención de humedad.

El rendimiento de todas las cuajadas, tanto control como con oligosacáridos, fue superior respecto al valor promedio para quesos frescos, que es de 15% según lo señalan Arce-Méndez et al. (2015). Esto se debe principalmente a que como ya se mencionó, la cuajada no se somete al proceso de prensado, por lo cual retiene mayor cantidad de agua y en consecuencia el rendimiento es mayor. Sin embargo, autores como Hosny et al. (2016) en su estudio reportan rendimientos queseros entre el 20.8 y 24.7% para quesos frescos suaves, que tampoco fueron prensados.



Letras diferentes indican diferencia significativa ($P < 0.05$)

Figura 4-1: Rendimientos de las cuajadas con diferentes niveles de inclusión de oligosacáridos de avena.

Por otra parte, la adición de algunos tipos de fibra como la inulina incrementa el rendimiento quesero cuando se compara con un queso control (Alnemr et al., 2013). De igual manera, con la inclusión de otros componentes de la fibra como la goma guar o pectinas se reportan rendimientos de 17 y 18%; superiores al rendimiento promedio para este tipo de quesos (Ochoa-Flores et al., 2013). Este incremento se debe

fundamentalmente a la capacidad que tienen estos componentes de la fibra de formar geles, que junto con su alta capacidad de retención de agua, permiten incrementar el contenido de humedad del queso, y por ende mejorar el rendimiento quesero (Karimi et al., 2015).

Sin embargo, como se evidenció con la inclusión de β -glucanos de avena, la incompatibilidad de estos con las micelas de caseína hace que se formen dos fases, una inferior rica en caseínas, y una superior rica en β -glucanos. Esto sucede cuando al agregar a la leche un biopolímero que no interactúa, como en el caso de los β -glucanos, se produce la floculación de las micelas de caseína, y estas como consecuencia de un gradiente de presión osmótica se atraen las unas a las otras (Corredig et al., 2011). En consecuencia, tal como se observa en la figura 4-1 los mayores niveles de inclusión de oligosacáridos pueden implicar una disminución en el rendimiento quesero, debido a esa mayor incompatibilidad a mayores concentraciones en la leche.

4.3 Análisis fisicoquímicos

4.3.1 Contenido de humedad

Los contenidos de humedad y de humedad libre de materia grasa (HLMG) de las cuajadas se presentan en la tabla 4-4. Se observa una diferencia estadísticamente significativa entre la cuajada con 0,25% de oligosacáridos y las demás cuajadas. Este mayor contenido de humedad de la cuajada con 0.25% de β -glucanos concuerda con el mayor rendimiento quesero.

Las cuajadas presentaron un alto contenido de humedad como consecuencia de la falta de prensado. En general, el contenido de humedad para quesos frescos oscila entre el 50 y 60% (Ramírez-López et al., 2012). Para el caso de la cuajada, al ser un producto más artesanal (a pesar de que existen cuajadas comerciales con registro sanitario), no se cuenta con información amplia sobre valores promedios de su composición. Por ello, se determinó el contenido de humedad de una cuajada comercial, y como resultado se obtuvo un valor de $66.88\% \pm 1.55\%$. Esto permite afirmar que el contenido de humedad de las cuajadas elaboradas coincide con el de una cuajada comercial.

Con respecto a la HLMG, se observa el mismo comportamiento, ya que la cuajada con inclusión de oligosacáridos al 0.25% fue la que presentó un mayor contenido ($75.68 \pm$

0.57%), y se mostró diferencia estadísticamente significativa en relación con las otras cuajadas. De acuerdo con los requisitos fisicoquímicos definidos en la NTC 750 para queso fresco, todas las cuajadas elaboradas se clasifican como quesos blandos, pues su HLMG es superior al 68% (ICONTEC, 2009).

Tabla 4-4: Humedad de cuajadas con diferentes niveles de inclusión de oligosacáridos de avena.

Adición oligosacáridos (%)	Humedad (%)	HLMG (%)
Control (0)	66.69 ± 0.96 ^a	72.36 ± 1.19 ^a
0.25	69.25 ± 1.26 ^b	75.68 ± 0.57 ^b
0.50	66.11 ± 0.51 ^a	71.67 ± 0.53 ^a
0.75	65.38 ± 0.50 ^a	70.80 ± 0.32 ^a

Letras diferentes indican diferencia significativa ($P < 0.05$). HLMG: humedad libre de materia grasa

De igual manera que sucede con el rendimiento, el contenido de humedad también puede incrementar con la inclusión de algún tipo de fibra. Ochoa-Flores et al. (2013) evaluaron el uso de diferentes agentes estabilizantes como carrageninas, goma guar y pectina en queso panela, y encontraron mayores rendimientos asociados a mayores contenidos de humedad, cuando la concentración del compuesto incrementaba, excepto con la pectina. En este caso se atribuyó la reducción de humedad a la incapacidad de formación de agregados caseína-pectina al pH normal de la leche. Sin embargo, como también se evidencia en esta investigación, las mayores concentraciones de oligosacáridos no incrementaron el contenido de humedad con respecto de la cuajada control como consecuencia de la incompatibilidad anteriormente mencionada entre estos compuestos y las caseínas. No obstante, autores como Volikakis et al. (2004) atribuyen un incremento en el contenido de humedad de queso en salmuera reducido en grasa con respecto a uno entero, a la inclusión de hasta 1.4% de β -glucanos en la leche.

4.3.2 Contenidos de grasa, proteínas y cenizas

Los resultados de los contenidos de grasa, proteínas y cenizas de las cuajadas se presentan en la tabla 4-5.

Tabla 4-5: Análisis fisicoquímicos de cuajadas con diferentes niveles de inclusión de oligosacáridos de avena.

Adición oligosacáridos (%)	Grasa en base seca (%)	Proteínas (%)	Cenizas (%)
Control (0)	23.54 ± 1.38 ^{ab}	17.74 ± 1.19 ^a	2.44 ± 0.24 ^a
0.25	27.56 ± 3.36 ^a	14.88 ± 0.49 ^b	2.21 ± 0.15 ^a
0.50	22.92 ± 0.72 ^{ab}	14.80 ± 0.55 ^b	2.27 ± 0.06 ^a
0.75	22.14 ± 0.51 ^b	14.53 ± 0.28 ^b	2.57 ± 0.08 ^a
Cuajada comercial	-	16.81 ± 0.81	1.47 ± 0.07

Letras diferentes en las columnas indican diferencia significativa ($P < 0.05$)

Grasa: El contenido de grasa en base húmeda de la cuajada control y las cuajadas con adición de oligosacáridos de avena al 0.25, 0.5 y 0.75% fue de 7.83, 8.50, 7.77 y 7.67%, respectivamente. Una vez se realizó la correspondiente determinación del contenido de grasa en base seca, se obtuvieron los valores presentados en la tabla 4-5, a partir de los cuales se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las cuajadas.

Esta diferencia se dio entre el menor contenido de sólidos grasos presentado en la cuajada con 0.75% de β -glucanos (22.14 ± 0.51%), y el mayor contenido de grasa obtenido en la cuajada con 0.25% de inclusión (27.56 ± 3.36%), es decir, la de menor contenido de β -glucanos. Esta última cuajada también obtuvo el mayor rendimiento quesero, lo cual es coherente si se tiene en cuenta que a mayor recuperación de grasa y otros componentes de la leche, y por tanto menores pérdidas de los mismos en el suero, la eficiencia en el proceso de elaboración del queso en términos de rendimiento quesero se incrementa (Fox et al., 2017). En este sentido, el contenido de materia grasa de la cuajada con mayor nivel de inclusión de oligosacáridos de avena se vio afectado posiblemente por la inestabilidad de la matriz generada con su incorporación a esta concentración.

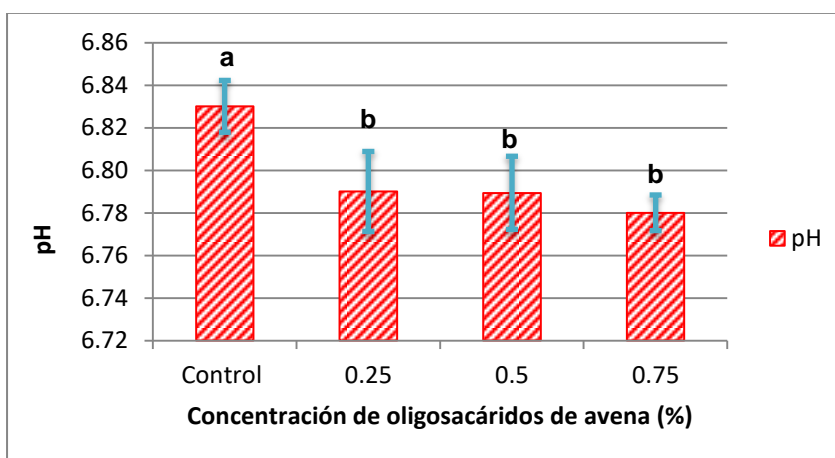
La cuajada control y las cuajadas con inclusión de oligosacáridos al 0.5 y 0.75%, al tener <25% de materia grasa en extracto seco según los requisitos fisicoquímicos establecidos en la NTC 750 (ICONTEC, 2009), se clasifican como quesos semidescremados; mientras la cuajada con 0.25% de inclusión se clasifica como un queso semigraso.

Proteínas: El contenido de proteínas presentó diferencias significativas entre la cuajada control y las tres cuajadas con adición de oligosacáridos de avena (Tabla 4-5). La cuajada control obtuvo el mayor contenido de proteína con $17.74 \pm 1.19\%$, similar al determinado en la cuajada comercial analizada ($16.81 \pm 0.81\%$). Se observó entonces que en las cuajadas con adición de oligosacáridos hubo reducción del contenido de proteína posiblemente como consecuencia de la floculación de las caseínas, y del efecto que esto tiene sobre la formación de la cuajada (Corredig et al., 2011). Al igual que sucede con la grasa, cuando se presentan pérdidas de proteína en el suero durante la elaboración de quesos, se produce una reducción del rendimiento quesero (Tudorica et al., 2004). En general, el contenido de proteína de las cuajadas estuvo por debajo del 17 - 21% reportado para quesos frescos por Ramírez-López y Vélez-Ruíz (2012) a excepción del queso control.

Cenizas: Para el contenido de cenizas no se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre las cuajadas, es decir, la adición de oligosacáridos de avena en distintas concentraciones no tuvo un efecto sobre el contenido de minerales (Tabla 4-5). Sin embargo, en todas las cuajadas el contenido de cenizas fue superior al encontrado en la cuajada comercial analizada, cuyo valor fue de $1.47 \pm 0.07\%$.

4.3.3 pH

El valor de pH de la cuajada control fue significativamente mayor al pH registrado para las cuajadas con adición de los oligosacáridos de avena (Figura 4-2).



Letras diferentes indican diferencia significativa ($P < 0.05$)

Figura 4-2: pH de cuajadas con diferentes niveles de inclusión de oligosacáridos de avena.

Los valores de pH oscilaron entre 6.83 para la cuajada control y 6.78 para la cuajada con mayor concentración de β -glucanos (0.75%), los cuales son considerados como normales para quesos frescos. La cuajada comercial a la cual se le realizaron análisis registró un valor promedio de pH de 6.72 ± 0.06 . Estos valores de pH pueden representar una ventaja para la viabilidad de cultivos probióticos según lo señalan Escobar et al. (2012).

4.3.4 Acidez titulable

En la tabla 4-6 se presentan los resultados de la acidez titulable para las cuatro cuajadas. Se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre la cuajada control y las cuajadas con adición de oligosacáridos. La cuajada control fue la que presentó un porcentaje de acidez titulable mayor ($0.14 \pm 0.01\%$).

Tabla 4-6: Acidez de cuajadas con diferentes niveles de inclusión de oligosacáridos de avena.

Adición de oligosacáridos (%)	Acidez (% ácido láctico)
Control	0.14 ± 0.01^a
0.25%	0.11 ± 0.01^b
0.50%	0.11 ± 0.01^b
0.75%	0.12 ± 0.01^b
Cuajada comercial	0.18 ± 0.03

Letras diferentes indican diferencia significativa ($P < 0.05$)

La acidez de la leche y derivados puede medirse de dos maneras, la primera por la determinación del pH, y la segunda por la medición de la acidez titulable. Sin embargo, existe una diferencia fundamental entre ambas, pues el pH mide la concentración de iones hidrógeno (H^+) disociados en la solución, mientras que la acidez titulable mide la concentración total de iones hidrógeno, es decir, tanto disociados como no disociados (Caprita et al., 2014). Se observa que la cuajada control, cuyo contenido de acidez es el más alto, es a su vez la que presentó un valor de pH más alto con respecto a las otras cuajadas; es decir, los valores de acidez titulable y pH no están estrictamente asociados. En este sentido, la acidez titulable puede no ser la medida más exacta de la cantidad de

ácido láctico presente en leche o quesos, pues otros ácidos formados a partir de carbohidratos o del metabolismo de proteínas pueden contribuir a dicha acidez (Fox et al., 2017). La acidez de todas las cuajadas fue menor en comparación con la acidez registrada por la cuajada comercial analizada ($0.18 \pm 0.03\%$), y lo reportado por Guzmán et al. (2015) para quesos frescos (0.20%).

4.4 Análisis de perfil de textura

Los resultados del análisis de perfil de textura en términos de dureza, elasticidad, cohesividad y masticabilidad de las cuajadas se encuentran consignados en la tabla 4-7.

Tabla 4-7: Propiedades texturales de cuajadas con diferentes niveles de inclusión de oligosacáridos de avena.

Adición de oligosacáridos (%)	Dureza (N)	Elasticidad	Cohesividad	Masticabilidad (N)
Control	15.48 ± 3.24^a	0.86 ± 0.20^a	0.35 ± 0.10^a	4.50 ± 1.48^a
0.25%	10.53 ± 2.97^{ab}	0.78 ± 0.11^a	0.28 ± 0.04^a	2.40 ± 1.16^{ab}
0.50%	11.62 ± 1.81^{ab}	0.92 ± 0.03^a	0.32 ± 0.03^a	3.45 ± 0.83^{ab}
0.75%	7.43 ± 2.15^b	0.68 ± 0.05^a	0.29 ± 0.004^a	1.48 ± 0.47^b
Cuajada comercial	13.80 ± 2.58	0.93 ± 0.01	0.32 ± 0.02	4.15 ± 0.67

Letras diferentes en las columnas indican diferencia significativa ($P < 0.05$)

A continuación, se discuten los resultados de cada uno de los parámetros texturales de la cuajada control y las cuajadas con inclusión de oligosacáridos de avena.

- Dureza:** De acuerdo con el análisis de varianza y la comparación de medias, se evidencian diferencias significativas entre las cuajadas para el parámetro textural de dureza. Esa diferencia se dio entre la cuajada control (15.48 ± 3.2 N) y la cuajada con mayor inclusión de oligosacáridos de avena (7.43 ± 2.15 N). La adición de los oligosacáridos genera cuajadas más blandas, debido a su incompatibilidad termodinámica con las caseínas, impidiendo la adecuada formación de un gel tridimensional que le dé estructura a las cuajadas. La cuajada comercial analizada presentó un valor promedio de dureza de 13.80 ± 2.58 N, similar al de la cuajada control.

- **Elasticidad:** Para este parámetro textural no se presentaron diferencias significativas entre cuajadas, y tampoco se observó una tendencia de los resultados. De acuerdo con Baghdadi et al. (2018) la elasticidad se encuentra relacionada con el contenido de grasa en los quesos. Aquellos con una reducción del contenido de sólidos grasos tienden a ser más elásticos. Otros autores como Aydinol y Ozcan (2018), quienes evaluaron la inclusión de β -glucanos en queso Labneh; y Castro (2014) quien determinó el efecto de la adición de dextrano en un queso semigraso, también reportan una reducción de la elasticidad cuando el contenido de grasa fue menor. Esto podría deberse a una menor cantidad de glóbulos de grasa dispersos en la matriz de proteínas del queso (Mayta-Hanco et al., 2019). Por otra parte, la elasticidad de la cuajada comercial analizada fue similar a la de las cuajadas evaluadas, con un valor promedio de 0.93 ± 0.01 .

- **Cohesividad:** Respecto a este parámetro, no se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre las cuajadas. Benjamin et al., (2018) no encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los polisacáridos adicionados a un queso fresco semiduro (carrageninas, alginato de sodio y goma garrofín), aunque sí señalaron una tendencia de incremento en la cohesividad cuando la humedad del queso era menor con respecto al control; sin embargo, estos polisacáridos sí presentaron una interacción con la red de proteínas del queso. Esto difiere de lo reportado por Tunick y Hekken (2009) para los quesos frescos que registraron valores de cohesividad similares a los de las cuajadas (0.25-0.30), y cuya relación con la HLMG es directamente proporcional, es decir, si la humedad era mayor, la cohesividad también. En el caso de la cuajada comercial analizada se obtuvo un valor promedio de cohesividad de 0.32 ± 0.02 , similares a las obtenidas por las cuajadas evaluadas.

- **Masticabilidad:** Para este parámetro sí hubo diferencias estadísticamente significativas entre las cuajadas. Esta diferencia se dio entre la cuajada control (4.50 ± 1.48 N) y la cuajada con inclusión de 0.75% de oligosacáridos de avena (1.48 ± 0.47 N). La masticabilidad según Bourne (2002) está relacionada con el esfuerzo requerido para romper los enlaces internos del alimento, y por lo tanto se entiende como la fuerza necesaria para reducir apropiadamente el alimento con el fin de ser ingerido; es decir, se requiere una mayor fuerza para la masticación de la cuajada control con respecto a la cuajada con la más alta inclusión de β -glucanos. Este parámetro es el producto de la

dureza, cohesividad y elasticidad (de Moraes et al., 2018); por lo tanto al encontrarse diferencias entre la dureza de estas dos mismas cuajadas, la masticabilidad también se vio afectada. Igualmente, a medida que la cohesividad se vea afectada por el contenido de humedad, y la elasticidad por el contenido de grasa en la cuajada, la masticabilidad también sufrirá cambios. La cuajada comercial analizada tuvo un valor de masticabilidad de 4.15 ± 0.67 N, es decir, similar al de la cuajada control.

4.5 Color

Los resultados de las coordenadas de color L^* , a^* y b^* de las cuajadas se encuentran consignados en la tabla 4-8.

Tabla 4-8: Coordenadas de color L^* , a^* y b^* de las cuajadas con diferentes niveles de inclusión de oligosacáridos de avena.

Adición de oligosacáridos (%)	L^*	a^*	b^*
Control	89.97 ± 0.88^a	0.27 ± 0.21^a	15.44 ± 1.32^a
0.25%	89.03 ± 2.03^{ab}	-0.001 ± 0.23^a	13.69 ± 0.99^a
0.50%	87.94 ± 1.12^{ab}	-0.29 ± 0.81^a	13.17 ± 2.34^a
0.75%	85.77 ± 0.70^b	0.09 ± 0.33^a	15.38 ± 0.96^a
Cuajada comercial	89.89 ± 0.11	1.03 ± 0.06	14.76 ± 0.09

Letras diferentes en las columnas indican diferencia significativa ($P < 0.05$)

- **Coordenada L^* :** Según los resultados obtenidos del ANOVA para la variable de luminosidad, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre la cuajada control (89.97 ± 0.88) y la cuajada con inclusión de 0.75% de oligosacáridos de avena (85.77 ± 0.70). En general, pese a que no existieron diferencias entre las demás cuajadas, se percibió una tendencia de reducción en el valor de esta coordenada a medida que incrementó la concentración del extracto de β -glucanos en las cuajadas. Asimismo, el valor promedio de luminosidad de la cuajada comercial analizada (89.89 ± 0.11) fue similar a los registrados para todas las cuajadas.

De acuerdo con Juan et al. (2013), la luminosidad de quesos frescos puede verse modificada por el contenido de sólidos grasos, pues en quesos reducidos en grasa se evidenció menor luminosidad en comparación con quesos enteros, ya que los glóbulos

de grasa son parcialmente responsables de la reflexión de los rayos de luz dispersos en la leche (Piazzon-Gomes et al., 2010). Esto coincide con obtenido en la cuajada de 0.75% de inclusión, que también presentó el menor contenido de grasa. Adicionalmente, atribuyen estos resultados a la inclusión de inulina, que puede contribuir a la dispersión de la luz, y por ende a la opacidad de los quesos. En este sentido, la adición de otros oligosacáridos como β -glucanos de avena podría tener el mismo efecto.

- **Coordenada a*:** Para la coordenada de índice verde-rojo (-a*, +a*) no se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre las cuajadas, y sus valores fueron marcadamente inferiores al valor promedio registrado por la cuajada comercial analizada para esta coordenada de color, que fue de 1.03 ± 0.06 .

Tampoco se observó una tendencia con la inclusión de los oligosacáridos de avena pese a que todas estuvieron cerca al valor neutro. Aydinol et al. (2018) por su parte encontraron tendencias hacia valores negativos del parámetro a*, cuando incluyeron β -glucanos en la formulación de queso Labneh.

- **Coordenada b*:** Respecto al índice azul-amarillo (-b*, +b*) tampoco se encontraron diferencias significativas entre las cuajadas evaluadas. Además, los valores registrados para esta coordenada de color fueron cercanos al valor promedio presentado por la cuajada comercial analizada, que fue de 14.76 ± 0.09 . Por consiguiente, todas las cuajadas tuvieron tendencia al amarillo, como era de esperarse. Los colores entre el rango de amarillo-rojo son responsabilidad de la presencia de carotenoides en la leche, que a su vez dependen de la composición de la dieta de las vacas, ya que estas no son capaces de sintetizarlos, pero sí de transferirlos a la leche (Fox et al., 2017). Con respecto a los β -glucanos, Aydinol et al., (2018) sí encontraron mayores valores para esta coordenada cuando estos fueron adicionados a queso Labneh, pues el extracto de oligosacáridos de avena es de color amarillo.

4.6 Concentración de oligosacáridos en la cuajada

Con el fin de determinar la cantidad de oligosacáridos de avena retenidos en términos de mg/g de cuajada, y el correspondiente porcentaje de retención con respecto a la cantidad adicionada en cada formulación, se empleó el método espectrofotométrico de turbidez descrito en el numeral 3.3.7. A continuación, en la tabla 4-9 se presentan estos resultados.

Tabla 4-9: Concentración y retención de oligosacáridos en quesos frescos tipos tipo cuajada con diferentes niveles de inclusión de oligosacáridos de avena.

Adición de oligosacáridos (%)	Concentración de oligosacáridos (mg/g de cuajada)	Retención de oligosacáridos (%)
0.25%	4.99 ± 0.56 ^a	56.56 ± 8.83 ^a
0.50%	7.84 ± 0.69 ^b	37.89 ± 4.26 ^b
0.75%	11.46 ± 1.19 ^c	35.39 ± 4.44 ^b

Letras diferentes en las columnas indican diferencia significativa (P<0.05)

Para la concentración final de oligosacáridos en términos de mg de oligosacáridos de avena/g de cuajada se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tres niveles de inclusión (0.25, 0.50 y 0.75%). Asimismo, como era de esperarse esta concentración final fue proporcional con respecto al porcentaje de inclusión inicial; es decir, a medida que este incrementó, la cantidad de mg de oligosacáridos/g de cuajada fue mayor también. Por el contrario, la retención de oligosacáridos en las cuajadas disminuyó a medida de que el contenido de inclusión inicial fue mayor. Para esta variable también se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre las cuajadas, siendo la cuajada con 0.25% de inclusión la diferente con respecto a las otras dos, y la que mayor retención de oligosacáridos tuvo con 56.56 ± 8.83%.

Estos resultados son congruentes con lo encontrado en los análisis fisicoquímicos y de textura de las cuajadas, en los cuales se encontró que a mayores concentraciones de β -glucanos en un queso fresco como la cuajada, se presenta una mayor inestabilidad en la matriz, y en consecuencia no hay una adecuada coagulación. Esto a su vez implica la formación de dos fases, una de las cuales es rica en oligosacáridos, y la otra en caseínas como lo reportan Ye (2008), Corredig et al. (2011) y Sharafbafi et al. (2014). Finalmente, las caseínas al ser las proteínas implicadas en la coagulación quedan en el queso, y los oligosacáridos se pierden en gran proporción en el suero. Por eso, a pesar de que la concentración final de oligosacáridos por gramo de cuajada fue mayor con el contenido de inclusión más alto (0.75%), menor fue la retención de estos dentro de la matriz.

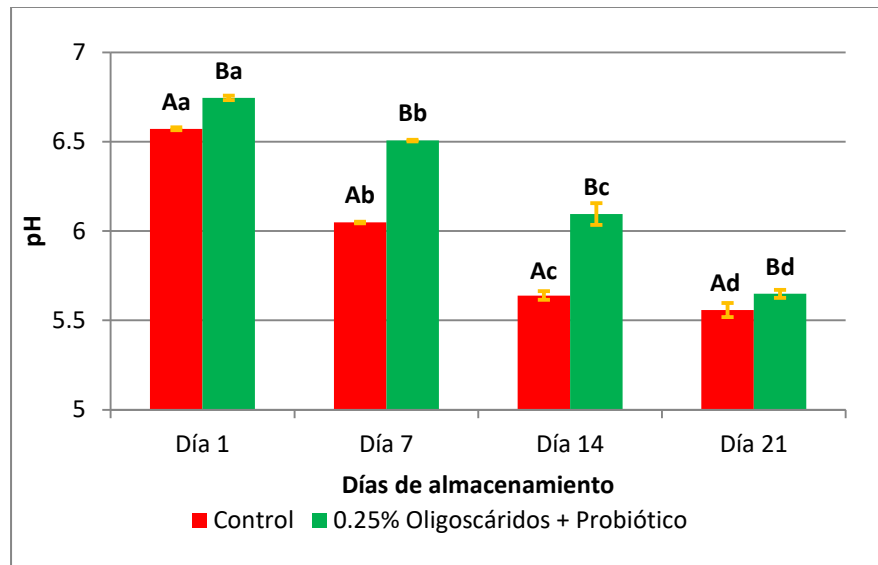
4.7 Análisis de estabilidad en almacenamiento de queso panela

Los análisis de estabilidad en almacenamiento se realizaron sobre quesos panelas con el probiótico *Lactobacillus casei* subsp. *ramnosus*, que contenían 0 y 0.25% de oligosacáridos de avena. Se escogió esta concentración ya que fue la que presentó mejores resultados en el queso tipo cuajada. Se determinaron el pH, la viabilidad del probiótico, el análisis de perfil de textura, el color instrumental, los análisis microbiológicos (coliformes totales, fecales, mohos y levaduras) a los días 1, 7, 14 y 21 de almacenamiento.

4.7.1 pH

La figura 4-3 contiene los resultados de la determinación de pH para cada día de medición durante el almacenamiento de los quesos elaborados. Se observa que hubo diferencias significativas entre quesos (control + probiótico y con 0.25% de oligosacáridos de avena + probiótico) para cada día de análisis, así como diferencias estadísticamente significativas entre los cuatro días de medición en el almacenamiento para cada queso.

Se evidencia también que el pH de ambos quesos descendió constantemente durante el almacenamiento en refrigeración. Para el caso del queso control con probiótico se registró un pH promedio de 6.57 al día 1, menor al registrado por el queso de 0.25% de oligosacáridos + probiótico (6.75). Asimismo, se observa que este último mantuvo su pH hasta el día 14 por encima de 6.0, contrario al obtenido por el queso control; sin embargo, ambos quesos al final del almacenamiento registraron valores promedio de pH menores a 6.0.



Letras mayúsculas (A, B) diferente indican diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$) entre quesos.

Letra minúscula (a, b, c, d) diferente indica diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$) durante el almacenamiento.

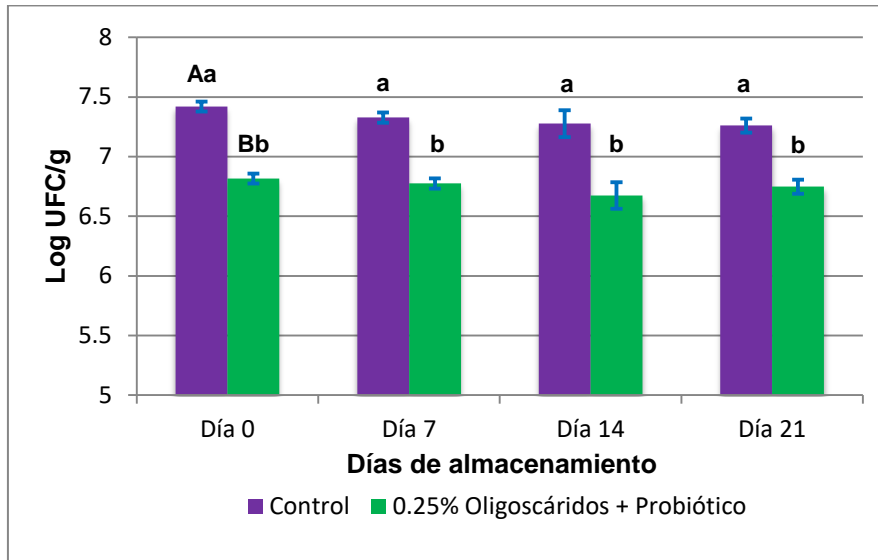
Figura 4-3: pH durante el almacenamiento de queso panela con probiótico y queso panela con oligosacáridos de avena (0.25%) y probiótico.

Este descenso marcado de pH puede estar relacionado con la presencia del cultivo probiótico, que al ser una bacteria acidoláctica promueve la acelerada acidificación del queso fresco, tal como indican Guerra-Martínez et al. (2012), quienes reportan un descenso de pH de 6.40 a 5.90 en 15 días en queso panela adicionado con un cultivo iniciador. Arteaga-Márquez et al. (2016) también reportaron menores valores de pH en queso costeño (queso fresco colombiano) con adición de cultivos probióticos respecto a uno sin probióticos, como consecuencia de la producción de ácido láctico a partir de la lactosa.

4.7.2 Viabilidad del probiótico

En la figura 4-4 se presentan los resultados de viabilidad de *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* durante los días 1, 7, 14 y 21 de almacenamiento de los quesos en refrigeración a 4 °C. Se observa que el queso control y el queso con 0.25% de inclusión de oligosacáridos de avena presentaron diferencias estadísticamente significativas para la viabilidad del probiótico al día 1 de almacenamiento, ya que la concentración de Log UFC/g fue menor en el queso con adición de oligosacáridos, por lo cual no se hizo

necesaria su comparación durante el resto del almacenamiento. Por el contrario, pese a que hubo una ligera disminución en el recuento durante el almacenamiento, ninguno de los quesos presentó diferencias estadísticamente significativas en la viabilidad del probiótico entre las cuatro mediciones realizadas en el tiempo, es decir, se mantuvo viable hasta el día 21 de almacenamiento.



Letras mayúsculas (A, B) diferente indican diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$) entre quesos.

Letra minúscula (a, b, c, d) diferente indica diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$) durante el almacenamiento.

Figura 4-4: Viabilidad del probiótico *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* (Log UFC/g) durante su almacenamiento adicionado en quesos panelas con 0 y 0.25% de inclusión de oligosacáridos de avena.

La menor concentración inicial del probiótico en el queso con inclusión de β -glucanos de avena puede deberse a una menor estabilidad de esta matriz con respecto al queso control, que implica una mayor pérdida en el suero, pues el probiótico fue adicionado antes de la coagulación de la cuajada. Sin embargo, en ambos quesos se logró alcanzar y mantener una concentración entre 10^6 y 10^8 UFC/g, ideal para lograr los beneficios que tienen los microorganismos probióticos sobre la salud humana (Vinicius et al., 2018), (Kerry et al., 2018).

4.7.3 Análisis microbiológicos

Los resultados de los análisis microbiológicos realizados al queso control y al queso con probiótico y adición de oligosacáridos de avena al 0.25% para coliformes totales, coliformes fecales, y mohos y levaduras se encontraron por debajo de los requisitos establecidos en la Norma Técnica Colombiana 750 para queso fresco (ICONTEC, 2009) y la Resolución 1804 del Ministerio de Salud (1989). Esto confirma en primera medida las buenas prácticas de manufactura que se tuvieron durante la elaboración de los quesos, y en segunda, que este tipo de quesos en términos microbiológicos puede tener una vida útil de por lo menos 21 días (Tabla 4-12).

Tabla 4-10: Análisis microbiológicos durante el almacenamiento de queso panela con probiótico y queso panela con oligosacáridos de avena (0.25%) y probiótico.

Queso	Días de almacenamiento	Coliformes totales	Coliformes fecales	Mohos y levaduras
Control	1	<100	<3	<10
	7	<100	<3	<10
	14	<100	<3	<100
	21	<100	<3	<100
0.25% oligosacáridos + probiótico	1	<100	<3	<10
	7	<100	<3	<10
	14	<100	<3	<100
	21	<100	<3	<100
Valor máximo permitido	-	1000-5000	0	100-500

Resultados similares reportan Alvarez Avendaño et al. (2009), que para queso campesino (queso colombiano homólogo al queso panela) observaron incrementos en el recuento de mohos y levaduras a partir de la sexta semana, es decir, bajo condiciones de refrigeración a 4 °C ese es el tiempo de vida útil, mientras que a una temperatura de almacenamiento de 10 °C los parámetros microbiológicos permitieron establecer una vida útil de solo 4 semanas.

4.7.4 Análisis de perfil de textura

Los resultados del análisis de perfil de textura para los parámetros de dureza, elasticidad, cohesividad y masticabilidad de los quesos frescos tipo panela con probiótico y adición de oligosacáridos de avena al 0.25% + probiótico durante el almacenamiento a 4 °C se encuentran consignados en la tabla 4-13.

Para el caso de dureza hubo diferencias estadísticamente significativas entre los quesos durante todo el almacenamiento, pues el queso con oligosacáridos de avena fue menos duro con respecto al control, similar al comportamiento en las cuajadas. Asimismo, en ambos quesos se observaron diferencias significativas entre el valor de dureza al día 1 con respecto al resto de días de almacenamiento como consecuencia de la pérdida de humedad. A partir del día 7, el valor de dureza no mostró cambios significativos. Autores como Tunick y Hekken (2009) reportaron una relación inversamente proporcional entre el contenido de humedad de quesos frescos y la dureza de los mismos. Guerra-Martínez et al. (2012) además de reportar esta misma relación, tampoco encontraron cambios significativos en la dureza de queso panela a partir de la segunda semana.

Tabla 4-11: Análisis de perfil de textura durante el almacenamiento de queso panela con probiótico y queso panela con oligosacáridos de avena (0.25%) y probiótico.

Parámetro	Queso	Día 1	Día 7	Día 14	Día 21
Dureza (N)	Control	33.41 ± 1.20 ^{Aa}	70.48 ± 4.37 ^{Aab}	94.76 ± 2.60 ^{Ab}	73.54 ± 2.23 ^{Aab}
	025% + Prob.	21.48 ± 2.30 ^{Ba}	55.91 ± 2.44 ^{Bb}	47.33 ± 1.87 ^{Bab}	51.40 ± 3.57 ^{Bb}
Elasticidad	Control	3.29 ± 0.04 ^{Aa}	2.81 ± 0.13 ^{Aab}	1.40 ± 0.18 ^{Ac}	1.77 ± 0.30 ^{Abc}
	025% + Prob.	3.32 ± 0.06 ^{Aa}	3.39 ± 0.06 ^{Ba}	2.67 ± 0.26 ^{Ba}	3.40 ± 0.04 ^{Ba}
Cohesividad	Control	0.81 ± 0.09 ^{Aa}	0.80 ± 0.02 ^{Aa}	0.81 ± 0.01 ^{Aa}	0.83 ± 0.01 ^{Aa}
	025% + Prob.	0.60 ± 0.01 ^{Ba}	0.55 ± 0.04 ^{Ba}	0.64 ± 0.08 ^{Ba}	0.64 ± 0.05 ^{Ba}
Masticabilidad (N)	Control	88.85 ± 8.52 ^{Aa}	158.38 ± 14.19 ^{Aa}	107.30 ± 11.51 ^{Aa}	107.55 ± 15.73 ^{Aa}
	025% + Prob.	43.07 ± 5.22 ^{Ba}	104.32 ± 1.35 ^{Bb}	79.78 ± 7.38 ^{Bab}	111.78 ± 10.16 ^{Ab}

Letras mayúsculas (A, B) diferentes indican diferencia estadísticamente significativa (P<0.05) entre quesos.

Letras minúsculas (a, b, c) diferentes indican diferencia estadísticamente significativa (P<0.05) entre días de almacenamiento.

Respecto a la elasticidad no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los dos quesos al día 1. Por el contrario, sí las hubo a partir del día 7, cuando la elasticidad del queso control comenzó a disminuir a través del tiempo de almacenamiento, cosa que no sucedió con el queso con contenido de oligosacáridos. Por su parte, la cohesividad de cada queso no se vio afectada por el almacenamiento de los mismos; sin embargo, entre quesos si fue estadísticamente significativa durante todo el tiempo de almacenamiento. En cambio, Guerra-Martínez et al. (2012) sí evidenciaron cambios significativos en la cohesividad de queso panela durante el almacenamiento asociados, según señalan, a cambios en el pH.

Por último, la masticabilidad al estar relacionada con los otros tres parámetros del perfil de textura también presentó diferencias estadísticamente significativas entre los dos quesos durante el almacenamiento. Para el queso control no se evidenció diferencia entre las cuatro mediciones realizadas en el tiempo, mientras en el queso con oligosacáridos sí. Estos valores de masticabilidad son similares a los encontrados por Volikakis et al. (2004) para quesos en salmuera, bajos en grasa y con contenidos de humedad similares a los quesos panela evaluados en la presente investigación.

4.7.5 Color

Los valores promedio para las coordenadas de color de los quesos frescos tipo panela con probiótico con y sin adición de oligosacáridos de avena, se presentan en la tabla 4-14. Estadísticamente, en el caso de la luminosidad de cada uno de los quesos no se observaron diferencias significativas entre las cuatro mediciones durante el almacenamiento, es decir, al día 21 ninguno de los quesos había sufrido cambios en esta coordenada, como se esperaría debido a la pérdida de suero que van sufriendo en el almacenamiento, o con la presentación de proteólisis y formación de compuestos que opacan el producto (Ramírez-López et al., 2012).

Respecto a la coordenada a*, a pesar de que al día 1 los quesos no presentaron diferencias significativas, sí lo hicieron a partir del día 7, momento a partir del cual también incrementó el valor en ambos quesos. Para la coordenada b*, solo el queso control mostró diferencia significativa al día 21 de almacenamiento, mientras el queso con oligosacáridos no evidenció cambios estadísticamente significativos. Estos cambios de color, como indican Benedettiet al. (2005), podrían estar atribuidos principalmente a la oxidación y actividad lipolítica.

Tabla 4-12: Coordenadas de color L*, a* y b* durante el almacenamiento de queso panela con probiótico y queso panela con oligosacáridos de avena (0.25%) y probiótico.

Parámetro	Queso	Día 1	Día 7	Día 14	Día 21
L*	Control	87.66 ± 0.87 ^{Aa}	88.61 ± 0.68 ^{Aa}	88.29 ± 0.31 ^{Aa}	88.38 ± 0.92 ^{Aa}
	025% +Prob.	87.96 ± 0.20 ^{Aa}	85.82 ± 1.13 ^{Ba}	86.93 ± 0.57 ^{Ba}	86.90 ± 1.09 ^{Aa}
	a*	Control	-0.34 ± 0.09 ^{Aa}	0.16 ± 0.06 ^{Ab}	0.23 ± 0.02 ^{Ab}
	025% +Prob.	-0.62 ± 0.24 ^{Aa}	-0.49 ± 0.14 ^{Bab}	-0.12 ± 0.04 ^{Bb}	-0.23 ± 0.06 ^{Bb}
b*	Control	13.97 ± 0.39 ^{Aa}	13.36 ± 0.68 ^{Aa}	14.30 ± 0.05 ^{Aa}	17.00 ± 0.71 ^{Ab}
	025% +Prob.	12.21 ± 0.42 ^{Ba}	12.13 ± 1.38 ^{Aa}	13.33 ± 0.95 ^{Aa}	13.31 ± 1.22 ^{Ba}

Letras mayúsculas (A, B) diferentes indican diferencia estadísticamente significativa (P<0.05) entre quesos.

Letras minúsculas (a, b) diferentes indican diferencia estadísticamente significativa (P<0.05) entre días de almacenamiento.

4.7.6 Pérdida de peso

Los resultados para la pérdida de peso durante el almacenamiento de los quesos panelas se encuentran resumidos en la tabla 4-15. Se evidencian diferencias estadísticamente significativas entre el queso control con el cultivo probiótico y el queso con 0.25% de oligosacáridos y probiótico para cada día de medición durante el almacenamiento. Asimismo, se observan diferencias significativas entre las cuatro mediciones a través del tiempo, para cada uno de los quesos.

Tabla 4-13: Pérdida de peso (%) durante el almacenamiento de queso panela con probiótico y queso panela con oligosacáridos de avena (0.25%) y probiótico.

Queso	Día 1	Día 7	Día 14	Día 21
Control	5.98 ± 0.51 ^{Aa}	11.66 ± 0.28 ^{Ab}	15.53 ± 0.32 ^{Ac}	17.81 ± 0.41 ^{Ad}
0.25% oligosacáridos + probiótico	8.31 ± 0.66 ^{Ba}	16.80 ± 0.20 ^{Bb}	20.17 ± 0.12 ^{Bc}	23.69 ± 0.39 ^{Bd}

Letras mayúsculas (A, B) diferentes indican diferencia estadísticamente significativa (P<0.05) entre quesos.

Letras minúsculas (a, b) diferentes indican diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$) entre días de almacenamiento.

Se evidencia también que la pérdida de peso en cada uno de los quesos incrementó a medida que el tiempo de almacenamiento fue transcurriendo. Esta pérdida fue significativamente mayor para el queso con probiótico y adición de oligosacáridos, pues al día 21 se registró un promedio de 23.69% de peso perdido, en comparación con el 17.81% registrado por el queso control en este mismo punto del almacenamiento.

Estos valores de pérdida de peso al día 21 son similares a los reportados por Cerqueira et al. (2010) para quesos con recubrimiento comestible a base de galactomananos (19.6%), comparados con quesos sin dicho recubrimiento (23.4%). Estas pérdidas de peso están relacionadas principalmente con la sinéresis que se da en este tipo de alimentos a través del tiempo, y la consecuente pérdida de suero. Ochoa-Flores et al. (2013) encontraron una mayor sinéresis en queso panela pasados 15 días cuando la concentración de agentes estabilizantes como carragenina y goma guar incrementaban. De acuerdo con lo obtenido en esta investigación, la adición de β -glucano de avena tampoco tuvo un efecto positivo sobre la sinéresis del queso panela, posiblemente atribuido a la incapacidad de interactuar con la red de proteínas, y por ende retener más agua dentro de la matriz.

5. Conclusiones y recomendaciones

5.1 Conclusiones

- La aplicación de ultrasonido a 55 °C o sin control de temperatura tuvo un efecto positivo sobre el rendimiento de extracción de oligosacáridos de avena, en comparación con el método convencional. Este efecto se explica por el fenómeno de cavitación inducido por el ultrasonido, que libera energía producto de la explosión de pequeñas burbujas, lo cual se ve reflejado en una mayor transferencia de masa y liberación de oligosacáridos. Por el contrario, el extracto obtenido por el método convencional fue el que presentó el mayor porcentaje de azúcares totales, es decir que presentó menos impurezas, ya que durante la aplicación de ultrasonido se puede extraer compuestos de otra naturaleza (proteínas, almidones, etc). Sin embargo, en términos de contenido de azúcares/100 g de avena, los métodos con aplicación de ultrasonido a 55 °C fueron superiores al convencional, debido a que el rendimiento de extracción fue mayor.
- La inclusión de β -glucanos de avena evidenció un efecto positivo en el rendimiento quesero asociado a un incremento en el contenido de humedad, cuando la concentración fue de 0.25%. Sin embargo, la adición de estos oligosacáridos al 0.50 y 0.75% evidenció la incompatibilidad termodinámica que tienen estos compuestos con las caseínas de la leche, ya que hubo separación de fases y una mayor dificultad de formación de la cuajada a medida que la concentración fue mayor. Esto conllevó a una menor retención de estos en la cuajada, en comparación con la concentración de 0.25% como consecuencia de dicha inestabilidad, y a una menor dureza y masticabilidad de las cuajadas frente a la cuajada control.
- La estabilidad de los quesos panela con adición de oligosacáridos al 0 y 0.25% e inclusión del probiótico *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* no difirió, pues se garantizó por al menos 21 días bajo refrigeración a 4 °C y empacados al vacío, lo cual evidencia a su vez las buenas prácticas de manufactura con que fueron

elaborados. Igualmente, la viabilidad del probiótico *Lactobacillus casei* subsp. *rahamnosus* se mantuvo durante los 21 días del almacenamiento por encima de la concentración mínima recomendada para probióticos en ambos quesos, lo que hace al queso tipo panela un buen vehículo para el suministro de estos microorganismos benéficos.

5.2 Recomendaciones

- Realizar un análisis sensorial de cuajada y queso panela con inclusión de oligosacáridos de avena por medio de una prueba de consumidores, además de un panel entrenado, con el fin de determinar las características de estos y compararlas con los respectivos controles.
- Comparar los resultados de textura y color instrumental con resultados de análisis sensorial con el fin de establecer si los resultados en esta investigación son percibidos por los sentidos de los consumidores y de los panelistas entrenados.
- Evaluar la inclusión de los oligosacáridos de avena en otro tipo de matrices lácteas, incluso en otro tipo de quesos, donde se dé más fácil su incorporación, pues existen estudios exitosos en queso crema.
- Evaluar la adición de los oligosacáridos de avena en otro punto de la elaboración de los quesos, con el fin de disminuir su pérdida durante el desuerado.

Bibliografía

- Ahmad, A., Anjum, F. M., Zahoor, T., Nawaz, H., and Ahmed, Z. (2010). Extraction and characterization of β -d-glucan from oat for industrial utilization. *International Journal of Biological Macromolecules*, 46(3), 304–309. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2010.01.002>
- Ahmad, A., Anjum, F. M., Zahoor, T., Nawaz, H., and Dilshad, S. M. R. (2012). Beta glucan: A valuable functional ingredient in foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52(3), 201–212. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.499806>
- Ahmadi, E., Alizadeh-Navaei, R., and Mohammad Sadegh Rezai. (2015). Efficacy of probiotic use in acute rotavirus diarrhea in children: A systematic review and meta-analysis. *Caspian Journal of Internal Medicine*, 6(4), 187–195.
- Aktas-Akyildiz, E., Sibakov, J., Nappa, M., Hytönen, E., Koksel, H., and Poutanen, K. (2018). Extraction of soluble β -glucan from oat and barley fractions: Process efficiency and dispersion stability. *Journal of Cereal Science*, 81, 60–68. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.03.007>
- Al-Sheraji, S. H., Ismail, A., Manap, M. Y., Mustafa, S., Yusof, R. M., and Hassan, F. A. (2013). Prebiotics as functional foods: A review. *Journal of Functional Foods*, 5(4), 1542–1553. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.08.009>
- Aliasgharzadeh, A., Dehghan, P., Gargari, B. P., and Asghari-Jafarabadi, M. (2015). Resistant dextrin, as a prebiotic, improves insulin resistance and inflammation in women with type 2 diabetes: a randomised controlled clinical trial. *British Journal of Nutrition*, 113(2), 321–330. [https://doi.org/DOI: 10.1017/S0007114514003675](https://doi.org/DOI:10.1017/S0007114514003675)
- Alnemr, T. M., El-Razek, A. M. A., Hasan, H. M. A., and Massoud, M. (2013). Improving of Karish cheese by using enhanced technological texturizing inulin. *Alexandria Journal of Agricultural Research*, 58, 173–181.
- Alvarez Avendaño, C. M., and Gutiérrez Álvarez, L. F. (2009). *Determinación de la vida útil del queso campesino por medio de nariz electrónica. [recurso electrónico]*. Retrieved from <http://ezproxy.unal.edu.co/login?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=cab02704a&AN=unc.000397147&lang=es&site=eds-live>
- Angelov, A., Yaneva-Marinova, T., and Gotcheva, V. (2018). Oats as a matrix of choice for developing fermented functional beverages. *Journal of Food Science and Technology*, pp. 1–10. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3186-y>

- Antza, C., Stabouli, S., and Kotsis, V. (2018). Gut microbiota in kidney disease and hypertension. *Pharmacological Research*, 130, 198–203. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2018.02.028>
- Anukam, K. C., Osazuwa, E. O., Osadolor, H. B., Bruce, A. W., and Reid, G. (2008). Yogurt Containing Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *L. reuteri* RC-14 Helps Resolve Moderate Diarrhea and Increases CD4 Count in HIV/AIDS Patients. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 42(3), 239–243.
- AOAC. (2000). *Official Methods of Analysis*. Gaithersburg, MD.: Association of Official Analytical Chemists Int.
- Aparicio, A., and Ortega, R. M. (2015). Efectos del consumo del beta-glucano de la avena sobre el colesterol sanguíneo: una revisión. *Revista Española de Nutrición Humana y Dietética*, 20(2), 127–139. <https://doi.org/10.14306/renhyd.20.2.183>
- Arce-Méndez, R. J., Thompson-Vicente, E., and Calderón-Villaplana, S. (2015). Incorporación de la proteína del suero lácteo en un queso fresco. *Agronomía Mesoamericana*, 27(1), 61–71. <https://doi.org/10.15517/am.v27i1.21878>
- Arteaga-Márquez, M., Mendoza-Corvis, F., Montes-Guzmán, M., and Ruiz-Sánchez, O. (2016). Efectos del *Bifidobacterium animalis* y dos cepas de *Lactococcus lactis* en el queso costeño. *Corpoica Ciencia Y Tecnología Agropecuaria*, 17(3), 391–402. https://doi.org/http://dx.doi.org/10.21930/rcta.vol17_num3_art:515
- Asociación Latinoamericana de Diabetes. (2017). Prevención de enfermedades metabólicas en Latinoamérica: Un reto de estos tiempos. *Revista ALAD*, 7(2), 54–56. Retrieved from <http://www.revistaalad.com>
- Aydinol, P., and Ozcan, T. (2018). Production of reduced-fat Labneh cheese with inulin and β -glucan fibre-based fat replacer. *International Journal of Dairy Technology*, 71(2), 362–371. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12456>
- Baghdadi, F., Aminifar, M., Farhoodi, M., and Aliabadi, S. S. (2018). Changes in the structure of brined cheese modified with basil seed gum based on protein-polysaccharide interactions. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 20(4), 695–708.
- Benedetti, S., Sinelli, N., Buratti, S., and Riva, M. (2005). Shelf Life of Crescenza Cheese as Measured by Electronic Nose. *Journal of Dairy Science*, 88(9), 3044–3051. [https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72985-4](https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72985-4)
- Benito-Román, Ó., Alonso, E., and Cocero, M. J. (2013). Ultrasound-assisted extraction of β -glucans from barley. *LWT - Food Science and Technology*, 50(1), 57–63. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.07.006>
- Benjamin, O., Rytwo, G., Davidovich-Pinhas, M., and Shpigelman, A. (2018). Utilization of polysaccharides to modify salt release and texture of a fresh semi hard model cheese. *Food Hydrocolloids*, 75, 95–106. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.08.033>

- Bottari, B., Felis, G. E., Salvetti, E., Castioni, A., Campedelli, I., Torriani, S., ... Gatti, M. (2017). Effective identification of *Lactobacillus casei* group species: genome-based selection of the gene *mutL* as the target of a novel multiplex PCR assay. *Microbiology*, *163*(7), 950–960. <https://doi.org/https://doi.org/10.1099/mic.0.000497>
- Bourne, M. (2002). *Food Texture and Viscosity* (2nd ed.). <https://doi.org/10.1007/978-3-319-14346-0>
- Brennan, C. S., and Cleary, L. J. (2005). The potential use of cereal (1-3,1-4)-b-D-glucans as functional food ingredients. *Journal of Cereal Science* *42*, *42*, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2005.01.002>
- Brownlee, I. A. (2011). The physiological roles of dietary fibre. *Food Hydrocolloids*, *25*(2), 238–250. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.11.013>
- Cagno, R. Di, Pasquale, I. De, Angelis, M. De, Buchin, S., Rizzello, C. G., and Gobbetti, M. (2014). Use of microparticulated whey protein concentrate , and adjunct cultures for making low-fat Italian Caciotta-type cheese. *Journal of Dairy Science*, *97*(1), 72–84. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-7078>
- Caprita, R., Caprita, A., Cretescu, I., and Nicu, V. (2014). Evaluation of Some Physicochemical Properties of Milk Caused by Acidification. *Animal Science and Biotechnologies*, *47*(2), 137–141.
- Castro, A. C. (2014). *Efecto de la adición de un dextrano sobre las características fisicoquímicas, sensoriales y funcionales de queso de pasta hilada semigraso* (Universidad Nacional de Colombia). Retrieved from <http://bdigital.unal.edu.co/46582/1/38212476.2014.pdf>
- Cerqueira, M. A., Sousa-gallagher, M. J., Macedo, I., Rodriguez-aguilera, R., Souza, B. W. S., Teixeira, J. A., and Vicente, A. A. (2010). Use of galactomannan edible coating application and storage temperature for prolonging shelf-life of “ Regional ” cheese. *Journal of Food Engineering*, *97*(1), 87–94. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.09.019>
- Chen, C., Wang, L., Wang, R., Luo, X., Li, Y., Li, J., ... Chen, Z. (2018). Ultrasound-assisted extraction from defatted oat (*Avena sativa* L.) bran to simultaneously enhance phenolic compounds and β -glucan contents: compositional and kinetic studies. *Journal of Food Engineering*, *222*, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.11.002>
- Chen, Y., Li, R., Chang, Q., Dong, Z., Yang, H., and Xu, C. (2019). *Lactobacillus bulgaricus* or *Lactobacillus rhamnosus* Suppresses NF- κ B Signaling Pathway and Protects against AFB₁-Induced Hepatitis: A Novel Potential Preventive Strategy for Aflatoxicosis? *Toxins*, *11*(1), 17. <https://doi.org/10.3390/toxins11010017>
- Ciudad-Mulero, M., Fernández-Ruiz, V., Matallana-González, M. C., and Morales, P. B. T. (2019). Dietary fiber sources and human benefits: The case study of cereal and pseudocereals. In *Advances in Food and Nutrition Research*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2019.02.002>

- Clemens, R., and Van Klinken, B. J. W. (2014). Oats, more than just a whole grain: An introduction. *British Journal of Nutrition*, 112(2014), S1–S3. <https://doi.org/10.1017/S0007114514002712>
- Codex-Alimentarius. (2013). *NORMA GENERAL DEL CODEX PARA EL QUESO*. 1–5.
- Corredig, M., Sharafbafi, N., and Kristo, E. (2011). Polysaccharide-protein interactions in dairy matrices, control and design of structures. *Food Hydrocolloids*, 25, 1833–1841. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.05.014>
- Crane, S. L., Prescott, K., Wickens, L., Westcott, J., Jung, H., Currie, P., ... Siebers, L. (2008). Supplementation with *Lactobacillus rhamnosus* or *Bifidobacterium lactis* probiotics in pregnancy increases cord blood interferon- γ and breast milk transforming growth factor- β and immunoglobulin A detection. *Clinical and Experimental Allergy*, 38, 1606–1614.
- Cruz-Guerrero, A., Hernández-Sánchez, H., Rodríguez-Serrano, G., Gómez-Ruiz, L., García-Garibay, M., and Figueroa-González, I. (2014). Commercial probiotic bacteria and prebiotic carbohydrates: A fundamental study on prebiotics uptake, antimicrobials production and inhibition of pathogens. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(11), 2246–2252. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6549>
- Dahl, W. J., and Stewart, M. L. (2015). Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: Health Implications of Dietary Fiber. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 115(11), 1861–1870. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jand.2015.09.003>
- Daou, C., and Zhang, H. (2012). Oat Beta-Glucan: Its Role in Health Promotion and Prevention of Diseases. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11, 355–365. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2012.00189.x>
- de Moraes, G. M. D., dos Santos, K. M. O., de Barcelos, S. C., Lopes, S. A., and do Egito, A. S. (2018). Potentially probiotic goat cheese produced with autochthonous adjunct culture of *Lactobacillus mucosae*: Microbiological, physicochemical and sensory attributes. *LWT - Food Science and Technology*, 94, 57–63. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.04.028>
- Delcour, J. A., Aman, P., Courtin, C. M., Hamaker, B. R., and Verbeke, K. (2016). Prebiotics, Fermentable Dietary Fiber, and Health Claims. *Advances in Nutrition*, 7(1), 1–4. <https://doi.org/10.3945/an.115.010546>
- Delzenne, N. M., Olivares, M., Neyrinck, A. M., Beaumont, M., Larsen, T. M., Benítez-páez, A., ... Sanz, Y. (2019). Nutritional interest of dietary fiber and prebiotics in obesity: lessons from the MyNewGut consortium. *Clinical Nutrition*. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2019.03.002>
- Dong, J. L., Yu, X., Dong, L. E., and Shen, R. L. (2017). In vitro fermentation of oat β -glucan and hydrolysates by fecal microbiota and selected probiotic strains. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(12), 4198–4203. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8292>

- Durán, S., and Angarita, L. (2016). Efecto del β -glucano de avena sobre el índice glicémico y carga glicémica de un suplemento nutricional edulcorado con sucralosa en adultos sanos: Un ensayo clínico aleatorizado. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, 25(4), 77–85.
- Escobar, M. C., Van Tassell, M. L., Martínez-Bustos, F., Singh, M., Castaño-Tostado, E., Amaya-Llano, S. L., and Miller, M. J. (2012). Characterization of a Panela cheese with added probiotics and fava bean starch. *Journal of Dairy Science*, 95(6), 2779–2787. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4655>
- Espinosa-Montesinos, D. A. (2018). *Detoxificación de leche contaminada con aflatoxinas*. Univesidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa.
- FAO/WHO. (2001). *Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria*. Retrieved from ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/%0Aprobioreport_en.pdf%0A
- FDA, F. and D. A. (2016). Scientific Evaluation of the Evidence on the Beneficial Physiological Effects of Isolated or Synthetic Non-Digestible Carbohydrates Submitted as a Citizen Petition; Draft Guidance for Industry; Availability. Retrieved from https://www.fda.gov/food/food-labeling-nutrition/questions-and-answers-dietary-fiber#define_dietary_fiber
- FEDEGAN, F. C. de G. (2019). ¿Cómo está el consumo de quesos en Colombia? Retrieved from <https://www.fedegan.org.co/noticias/como-esta-el-consumo-de-quesos-en-colombia>
- Fernández, M., Hudson, J. A., Korpela, R., and De Los Reyes-Gavilán, C. G. (2015). Impact on human health of microorganisms present in fermented dairy products: An overview. *BioMed Research International*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/412714>
- Figuroa-González, I., Quijano, G., Ramírez, G., and Cruz-Guerrero, A. (2011). Probiotics and prebiotics-perspectives and challenges. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(8), 1341–1348. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4367>
- Figuroa, I., Cruz-Guerrero, A., and Quijano, G. (2011). The Benefits of Probiotics on Human Health. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, s1(01), 1–6. <https://doi.org/10.4172/1948-5948.S1-003>
- Fox, P., Guinee, T., Cogan, T., and McSweeney, P. (2017). Fundamentals of Cheese Science. In *Fundamentals of Cheese Science, Second Edition*. <https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7681-9>
- Fuller, S., Beck, E., Salman, H., and Tapsell, L. (2016). New Horizons for the Study of Dietary Fiber and Health: A Review. *Plant Foods for Human Nutrition (Dordrecht, Netherlands)*, 71(1), 1–12. <https://doi.org/10.1007/s11130-016-0529-6>
- Gibson, G. R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S. J., ... Reid, G. (2017). CONSENSUS The International Scientific Association and scope of prebiotics. *Nature Publishing Group*, 14(8), 491–502.

<https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.75>

- Gomes da Cruz, A., Buriti, F. C. A., Batista de Souza, C. H., Fonseca, J. A., and Isay, S. M. (2009). Probiotic cheese: Health benefits, technological and stability aspects. *Trends in Food Science and Technology*, 20(8), 344–354. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.05.001>
- González-Córdova, A. F., Yescas, C., and Ortiz-Estrada, Á. M. (2016). Invited review : Artisanal Mexican cheeses Invited review: Artisanal Mexican cheeses. *Journal of Dairy Science*, 99(5), 3250–3262. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10103>
- Gray, J. (2006). *Fibra dietética*. Bruselas: ILSI Europe.
- Guerra-Martínez, J. A., Montejano, J. G., and Martín-del-Campo, S. T. (2012). Evaluation of proteolytic and physicochemical changes during storage of fresh Panela cheese from Queretaro, Mexico and its impact in texture. *CyTA – Journal of Food*, 10(4), 296–305. <https://doi.org/10.1080/19476337.2011.653791>
- Guzmán, L. E., Tejada T, C., and de la Ossa M., Y. J. (2015). Análisis comparativo de perfiles de textura de quesos frescos de leche de cabra y vaca. *Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 13(1), 139. [https://doi.org/10.18684/bsaa\(13\)139-147](https://doi.org/10.18684/bsaa(13)139-147)
- Hayes, M., Coakley, M., and O'Sullivan, O. (2006). Cheese as a delivery vehicle for probiotics and biogenic substances. *Australian Journal of Dairy*, 61, 132–141.
- Hosny, A., Mohammed, M., Aguilar-pérez, C. F., Ayala-burgos, A. J., Bottini-luzardo, M. B., Solorio-sánchez, F. J., and Ku-vera, J. C. (2016). Evaluation of milk composition and fresh soft cheese from an intensive silvopastoral system in the tropics. *Dairy Science and Technology*, 96, 159–172. <https://doi.org/10.1007/s13594-015-0251-4>
- Hussain, P. R., Rather, S. A., and Suradkar, P. P. (2018). Structural characterization and evaluation of antioxidant, anticancer and hypoglycemic activity of radiation degraded oat (*Avena sativa*) β -glucan. *Radiation Physics and Chemistry*, 144, 218–230. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2017.08.018>
- ICONTEC, I. C. de N. T. y C. (2009). *NTC-Norma Técnica Colombiana 750. Productos Lácteos. Queso*.
- Jiménez, J., Flores-Nájera, A., Cruz-Guerrero, A. E., and García-Garibay, M. (2009). Use of an exopolysaccharide-producing strain of *Streptococcus thermophilus* in the manufacture of Mexican Panela cheese. *LWT - Food Science and Technology*, 42(9), 1508–1512. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.04.009>
- Juan, B., Zamora, A., and Quintana, F. (2013). Effect of inulin addition on the sensorial properties of reduced-fat fresh cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 66(4), 478–483. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12057>
- Kamal, R. M., Alnakip, M. E., Abd, S. F., Aal, E., and Bayoumi, M. A. (2018). Biocontrolling capability of probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* against some common foodborne pathogens in yoghurt. *International Dairy Journal*, 85, 1–7.

<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.04.007>

- Karimi, R., Azizi, M. H., Ghasemlou, M., and Vaziri, M. (2015). Application of inulin in cheese as prebiotic, fat replacer and texturizer: A review. *Carbohydrate Polymers*, 119, 85–100. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.11.029>
- Kavas, G., Oysun, G., Kinik, O., and Uysal, H. (2004). Effect of some fat replacers on Chemical, Physical and sensory attributes of low-fat white pickled cheese. *Food Chemistry*, 88, 381–388. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.01.054>
- Kerry, R., Patra, J. K., Gouda, S., Park, Y., Shin, H. S., and Das, G. (2018). Benefaction of probiotics for human health: A review. *Journal of Food and Drug Analysis*, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.01.002>
- Khangwal, I., and Shukla, P. (2019). Potential prebiotics and their transmission mechanisms: Recent approaches. *Journal of Food and Drug Analysis*. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2019.02.003>
- Koirala, R., Taverniti, V., Balzaretto, S., Ricci, G., Fortina, M. G., and Guglielmetti, S. (2015). Melting curve analysis of a groEL PCR fragment for the rapid genotyping of strains belonging to the *Lactobacillus casei* group of species. *Microbiological Research*, 173, 50–58. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.01.001>
- Kurtuldu, O., and Ozcan, T. (2018). Effect of β -glucan on the properties of probiotic set yoghurt with *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* strain Bb-12. *International Journal of Dairy Technology*, 71, 157–166. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12414>
- Ladjevardi, Z. S., Yarmand, M. S., Emam-Djomeh, Z., and Niasari-Naslaji, A. (2016). Physicochemical properties and viability of probiotic bacteria of functional synbiotic camel yogurt affected by oat β -glucan during storage. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 18(5), 1233–1246.
- Lazzi, C., Turrone, S., Mancini, A., Sgarbi, E., Neviani, E., Brigidi, P., and Gatti, M. (2014). Transcriptomic clues to understand the growth of *Lactobacillus rhamnosus* in cheese. *BMC Microbiology*, 14(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-14-28>
- Liu, L., Chen, P., Zhao, W., Li, X., Wang, H., and Qu, X. (2017). Effect of microencapsulation with the Maillard reaction products of whey proteins and isomaltooligosaccharide on the survival rate of *Lactobacillus rhamnosus* in white brined cheese. *Food Control*, 79, 44–49. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.03.016>
- Liu, L., Qu, X., Xia, Q., Wang, H., Chen, P., Li, X., ... Yang, W. (2018). Effect of *Lactobacillus rhamnosus* on the antioxidant activity of Cheddar cheese during ripening and under simulated gastrointestinal digestion. *LWT - Food Science and Technology*, 95(600), 99–106. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.04.053>
- López, A. L., Ruz, J. M., and Barriga, D. (2015). Determinaciones analíticas en queso. *Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera*, 1–26.
- Maphosa, Y., and Jideani, V. A. (2016). Dietary fiber extraction for human nutrition — A

- review. *Food Reviews International*, 32(1), 98–115.
- Mayta-Hancco, J., Trujillo, A.-J., Zamora, A., and Juan, B. (2019). Effect of ultra-high pressure homogenisation of cream on the physicochemical and sensorial characteristics of fat-reduced starter-free fresh cheeses. *LWT - Food Science and Technology*, 110, 292–298. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.04.096>
- Mendis, M., and Simsek, S. (2013). Arabinoxylans and human health. *Food Hydrocolloids*, 42(2), 239–243. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.07.022>
- Ministerio de Salud, de C. (1989). *Resolución 01804*.
- Ministerio de Salud y Protección Social, I. (1998). *Manual de técnicas de análisis para control de calidad microbiológica de alimentos para consumo humano*. Bogotá D.C.
- Mohanty, D., Misra, S., Mohapatra, S., and Sahu, P. S. (2018). Prebiotics and synbiotics : Recent concepts in nutrition. *Food Bioscience*, 26, 152–160. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2018.10.008>
- Montorsi, F., Gandaglia, G., Salonia, A., and Gratzke, C. (2016). Effectiveness of a Combination of Cranberries , *Lactobacillus rhamnosus* , and Vitamin C for the Management of Recurrent Urinary Tract Infections in Women : Results of a Pilot Study. *European Urology*, 70(6), 912–915. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2016.05.042>
- Nielsen, S. S. (2010). Food Analysis. [electronic resource]. In *Springer eBooks*. Retrieved from <http://ezproxy.unal.edu.co/login?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=cab02704a&AN=unc.000780727&lang=es&site=eds-live>
- Ningtyas, D. W., Bhandari, B., Bansal, N., and Prakash, S. (2018). Texture and lubrication properties of functional cream cheese: Effect of β -glucan and phytosterol. *Journal of Texture Studies*, 49(1), 11–22. <https://doi.org/10.1111/jtxs.12282>
- Novoa, C., and Rodríguez, A. (1995). *Manual de elaboración de quesos colombianos*. Suplemento Banco Ganadero.
- Ochoa-Flores, A. A., Hernández-Becerra, J. A., López-Hernández, E., and García-Galindo, S. (2013). Rendimiento, firmeza y aceptación sensorial de queso panela adicionado con estabilizantes. *Universidad y Ciencia Trópico Húmedo*, 29(3), 277–286.
- Panda, S. H., Das, S., Bal, P., Panda, S. K., Goli, J. K., and Mohanty, N. (2018). Characterization of novel folate producing *Lactobacillus rhamnosus* and its appliance in fortification of ragi (*Eleusine coracana*) gruel. *Food Bioscience*, 21, 100–106. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2017.12.006>
- Patel, S. (2015). Cereal bran fortified-functional foods for obesity and diabetes management: Triumphs, hurdles and possibilities. *Journal of Functional Foods*, 14, 255–269. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.02.010>

- Peshev, D., and Ende, W. Van Den. (2014). Fructans : Prebiotics and immunomodulators. *Journal of Functional Foods*, 8, 348–357. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.04.005>
- Piazzon-Gomes, J., Prudêncio, S. H., and Silva, R. S. dos S. F. da. (2010). Queijo tipo minas frescal com derivados de soja : características físicas , químicas e sensoriais. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 30(1), 77–85.
- Pitino, I., Randazzo, C. L., Cross, K. L., Parker, M. L., Bisignano, C., Wickham, M. S. J., ... Caggia, C. (2012). Survival of *Lactobacillus rhamnosus* strains inoculated in cheese matrix during simulated human digestion. *Food Microbiology*, 31(1), 57–63. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.02.013>
- Portafolio. (2019). *Consumo de queso sigue creciendo en Colombia*. Retrieved from <https://www.portafolio.co/negocios/consumo-de-queso-sigue-creciendo-en-colombia-530645>
- Ramírez-López, C., and Vélez-Ruiz, J. F. (2012). *Quesos frescos : propiedades , métodos de determinación y factores que afectan su calidad*. 6(2), 131–148.
- Rasane, P., Jha, A., and Sabikhi, L. (2015). Nutritional advantages of oats and opportunities for its processing as value added foods - a review. *Journal of Food Science and Technology*, 52(2), 662–675. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1072-1>
- Rascón, M. P., Huerta-vera, K., Pascual-pineda, L. A., Contreras-oliva, A., and Flores-andrade, E. (2018). Osmotic dehydration assisted impregnation of *Lactobacillus rhamnosus* in banana and effect of water activity on the storage stability of probiotic in the freeze-dried product. *LWT - Food Science and Technology*, 92, 490–496. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.02.074>
- Rebello, C. J., Neil, C. E. O., and Greenway, F. L. (2016). Dietary fiber and satiety : the effects of oats on satiety. *Emerging Science*, 74(2), 131–147. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuv063>
- SAGARPA. (2017). *Panorama de la leche en México*. Retrieved from http://infosiap.siap.gob.mx/opt/boletlech/B_leche_junio2017.pdf
- Saier Jr., M. H., and Mansour, N. M. (2006). Probiotics and Prebiotics in Human Health. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 10(1), 22–25. <https://doi.org/10.1159/000090345>
- Salvetti, E., Torriani, S., and Felis, G. E. (2012). The Genus *Lactobacillus* : A Taxonomic Update. *Probiotics & Antimicrobial Proteins*, 4, 217–226. <https://doi.org/10.1007/s12602-012-9117-8>
- Saraiva, B. R., Carolina, A., Vital, P., Anto, F., Caroline, J., Ribas, R., ... Pintro, M. (2019). Effect of yerba mate (*Ilex paraguariensis* A . St . -Hil .) addition on the functional and technological characteristics of fresh cheese. *Journal of Food Science and Technology*, 56(3), 1256–1265. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03589-w>
- Shah, A., Gani, A., Masoodi, F. A., Wani, S. M., and Ashwar, B. A. (2017). Structural,

- rheological and nutraceutical potential of β -glucan from barley and oat. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 10, 10–16. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2017.03.001>
- Shahid, M., Rajoka, R., Siddiq, M., Haobin, Z., Zhu, J., Yan, L., ... Shi, J. (2017). Identification, characterization, and probiotic potential of *Lactobacillus rhamnosus* isolated from human milk. *LWT - Food Science and Technology*, 84, 271–280. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.055>
- Shao, L., Wu, Z., Zhang, H., Chen, W., Ai, L., and Guo, B. (2014). Partial characterization and immunostimulatory activity of exopolysaccharides from *Lactobacillus rhamnosus* KF5. *Carbohydrate Polymers*, 107, 51–56. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.02.037>
- Sharafbafi, N., Tosh, S. M., Alexander, M., and Corredig, M. (2014). Phase behaviour, rheological properties, and microstructure of oat β -glucan-milk mixtures. *Food Hydrocolloids*, 41, 274–280. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.03.030>
- Shen, R. L., Dang, X. Y., Dong, J. L., and Hu, X. Z. (2012). Effects of oat β -glucan and barley β -glucan on fecal characteristics, intestinal microflora, and intestinal bacterial metabolites in rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(45), 11301–11308. <https://doi.org/10.1021/jf302824h>
- Sichetti, M., De Marco, S., Pagiotti, R., Traina, G., and Pietrella, D. (2018). Anti-inflammatory effect of multistrain probiotic formulation (*L. rhamnosus*, *B. lactis*, and *B. longum*). *Nutrition*, 53, 95–102. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.nut.2018.02.005>
- Slavin, J. (2013). Fiber and Prebiotics: Mechanisms and Health Benefits. *Nutrients*, Vol. 5. <https://doi.org/10.3390/nu5041417>
- Solanki, D., and Hati, S. (2018). Considering the potential of *Lactobacillus rhamnosus* for producing Angiotensin I-Converting Enzyme (ACE) inhibitory peptides in fermented camel milk (Indian breed). *Food Bioscience*, 23, 16–22. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2018.03.004>
- Solieri, L., Vero, L. De, and Tagliazucchi, D. (2018). Peptidomic study of casein proteolysis in bovine milk by *Lactobacillus casei* PRA205 and *Lactobacillus rhamnosus* PRA331. *International Dairy Journal*, 85, 237–246. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.06.010>
- Sourki, A. H., Koocheki, A., and Elahi, M. (2017). Ultrasound-assisted extraction of β -D-glucan from Hull-less barley: Assessment of physicochemical and functional properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 95, 462–475. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.10.111>
- Tabares, A., and Feria, P. (2009). La cuajada, aspectos técnicos y nutricionales. In *Despertar lechero*.
- Temelli, F. (1997). Extraction and Functional Properties of Barley beta-Glucan as Affected by. *Journal of Food Science*, 62(6), 1194–1198. <https://doi.org/10.1111/j.1365->

- 2621.1997.tb12242.x
- Torres, D. P. M., Goncalves, P. F., Teixeira, J. A., and Rodrigues, L. R. (2010). Galacto-Oligosaccharides: Production, Properties, Applications, and Significance as Prebiotics. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9, 438–454. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00119.x>
- Tripathi, M. K., and Giri, S. K. (2014). Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods*, 9, 225–241. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.04.030>
- Tudorica, C., Jones, T. E. R., Kuri, V., and Brennan, C. S. (2004). The effects of refined barley β -glucan on the physico-structural properties of low-fat dairy products: curd yield, microstructure, texture and rheology. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(10), 1159–1169. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1789>
- Tunick, M. H., and Hekken, D. L. V. A. N. (2009). Rheology and texture of commercial queso fresco cheeses made from raw and pasteurized milk. *Journal of Food Quality*, 33(2010), 204–215. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2010.00331.x>
- Vasquez-Orejarena, E., Simons, C. T., Litchfield, J. H., and Alvarez, V. B. (2018). Functional Properties of a High Protein Beverage Stabilized with Oat- β -Glucan. *Journal of Food Science*, 83(5), 1360–1365. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14119>
- Vinícius, G., Pereira, D. M., Coelho, B. D. O., Irineudo, A., Júnior, M., Thomaz-soccol, V., and Soccol, C. R. (2018). How to select a probiotic? A review and update of methods and criteria. *Biotechnology Advances*, 36(8), 2060–2076. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.09.003>
- Volikakis, P., Biliaderis, C. G., Vamvakas, C., and Zerfiridis, G. K. (2004). Effects of a commercial oat- β -glucan concentrate on the chemical, physico-chemical and sensory attributes of a low-fat white-brined cheese product. *Food Research International*, 37(1), 83–94. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2003.07.007>
- Vulevic, J., Drakoularakou, A., Yaqoob, P., Tzortzis, G., and Gibson, G. R. (2008). Modulation of the fecal microflora profile and immune function by a novel trans-galactooligosaccharide mixture (B-GOS) in healthy elderly volunteers. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 88(5), 1438–1446. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2008.26242>
- Wang, L. F., and Rhim, J. W. (2016). Grapefruit seed extract incorporated antimicrobial LDPE and PLA films: Effect of type of polymer matrix. *LWT - Food Science and Technology*, 74, 338–345. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.07.066>
- Wilson, B., and Whelan, K. (2017). Prebiotic inulin-type fructans and galacto-oligosaccharides: definition, specificity, function, and application in gastrointestinal disorders. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 32(S1), 64–68. <https://doi.org/10.1111/jgh.13700>

- Wu, C., Chen, P., Lee, Y., Ko, J., and Lue, K. (2016). Effects of immunomodulatory supplementation with *Lactobacillus rhamnosus* on airway inflammation in a mouse asthma model. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 49(5), 625–635. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2014.08.001>
- Ye, A. (2008). Complexation between milk proteins and polysaccharides via electrostatic interaction: principles and applications – a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 43, 406–415. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01454.x>
- Zhu, F., Du, B., and Xu, B. (2016). A critical review on production and industrial applications of beta-glucans. *Food Hydrocolloids*, 52, 275–288. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.07.003>
- Zielke, C., Kosik, O., Ainalem, M. L., Lovegrove, A., Stradner, A., and Nilsson, L. (2017). Characterization of cereal β -glucan extracts from oat and barley and quantification of proteinaceous matter. *PLOS ONE*, 12(2), 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172034>