

EFFECTO DEL ACILGELLAN ALTO Y BAJO EN LOS PARÁMETROS DE CRECIMIENTO DE LACTOBACILLUS DELBRUECKII

EFFECT OF HIGH AND LOW ACYL GELLAN ON GROWTH PARAMETERS OF LACTOBACILLUS DELBRUECKII

Villegas Duran, Mari^{1*}, González Cuello, Rafael², Taron Dunoyer, Arnulfo^{3*}

¹University of Cartagena. Faculty of Engineering. Biotechnology, Food and Education Research Group (GIBAE). MSc. Food Engineering Program. Cartagena. Colombia. Correo electrónico: mvillegasd@unicartagena.edu.co

²University of Cartagena. Faculty of Engineering. Food Packaging and Shelf Life research group (FP&SL). PhD. Programa de Ingeniería de Alimentos. Cartagena. Colombia

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-2674-2876> . Correo electrónico: rgonzalezc1@unicartagena.edu.co

³University of Cartagena. Faculty of Engineering. Biotechnology, Food and Education Research Group (GIBAE). MSc. Food Engineering Program. Cartagena. Colombia.

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-6942-4480>. Correo electrónico: atarond@unicartagena.edu.co

Received: May 2023; Accepted: October 2023

RESUMEN

El objetivo de este estudio era evaluar los parámetros de crecimiento de *Lactobacillus delbrueckii* en un sistema viscoelástico elaborado a partir de goma gelan. Inicialmente se incorporaron dispersiones de goma de alto (HAG), bajo acilo (LAG) y su mezcla HAG/LAG al 5 % p/v con inulina y se gelificaron mediante la adición de iones de calcio. El estudio viscoelástico de estos sistemas se realizó mediante oscilación dinámica. Los recuentos de *L. delbrueckii* cultivados sobre los sistemas gelan se ajustaron a los modelos de Huang y Gompertz para determinar los parámetros de crecimiento. Todos los sistemas de gelan estudiados mostraron un comportamiento predominantemente elástico, donde el módulo elástico (G') fue mayor que el módulo viscoso (G''). G' es inversamente proporcional a la velocidad máxima de crecimiento (μ). HAG y LAG tuvieron un efecto significativo principalmente en la fase de latencia (λ) y μ , mientras que

no se observó ninguna influencia en los parámetros de recuento inicial de células (Y_0) y recuento final de células (Y_{max}). El alto valor de μ encontrado en el sistema HAG indica que *L. delbrueckii* crece más rápido en el sistema HAG que en los sistemas LAG y HAG/LAG. Estos resultados pueden ser útiles para desarrollar nuevos productos alimenticios.

Keywords: Goma de alto y bajo, modelo de Huang, modelo de Gompertz, viscoelasticidad.

ABSTRACT

The aim of this study was evaluate the growth parameters of *Lactobacillus delbrueckii* in viscoelastic system made from gellan gum. Initially dispersions of high (HAG), low acyl gum (LAG) and their mixture HAG/LAG at 5 % w/v were incorporated with inulin and gelled by calcium ions addition. The viscoelastic study of these systems was performed through dynamic oscillatory. The counts of *L. delbrueckii* grown on gellan systems were adjusted to Huang and Gompertz models in order to determinate the growth parameters. All gellan systems studied showed a predominantly elastic behavior, where the elastic modulus (G') was greater than viscous modulus (G''). G' is inversely proportional to maximum growth rate (μ). HAG and LAG had significant effect mainly on latency phase (λ) and μ , while no influence was observed for initial count cells (Y_0) and final count cells (Y_{max}) parameters. The high value of μ found on HAG system indicate that *L. delbrueckii* grows faster at HAG than LAG and HAG/LAG systems. These findings can be useful to develop new alimentary products.

Keywords: High and low acyl gellan, Huang model, Gompertz model, Viscoelasticity.

^{3*} Corresponding author:
atarond@unicartagena.edu.co

INTRODUCCIÓN

Los probióticos son bacterias que, administradas en cantidades precisas, ejercen un efecto beneficioso sobre la salud del consumidor (Tripathi y Giri, 2014). Se recomienda una ingesta diaria en torno a 10⁶-10⁹ UFC/g para percibir y asegurar los beneficios para la salud. Algunos beneficios asociados a la ingesta de probióticos son los siguientes: estimulación del sistema inmunitario, reducción de la intolerancia a la lactosa, modulación del sistema gastrointestinal y reducción de los síntomas del intestino irritable (Sanders et al., 2013). En los últimos años, ha aumentado la demanda de productos alimenticios con características funcionales. Una forma de ampliar la oferta de productos funcionales es incorporar bacterias probióticas en diferentes matrices alimentarias. Sin embargo, las limitaciones difusionales de nutrientes y oxígeno junto con la acumulación de productos metabólicos en la matriz alimentaria podrían afectar al crecimiento probiótico (Aspidou et al., 2014). Se han realizado estudios para describir el crecimiento de microorganismos probióticos mediante modelos matemáticos (González et al., 2020).

La microbiología predictiva es un área multidisciplinar en la que colaboran estadísticos, microbiólogos alimentarios, matemáticos e informáticos. En términos generales, los modelos predictivos se construyen y utilizan para mejorar la calidad de los alimentos anticipando el comportamiento de los microorganismos en determinadas matrices alimentarias (Szcawinski 2012, Arroyo-López, et al., 2012). Teniendo en cuenta lo anterior, es importante desarrollar experimentos que estimen el crecimiento de probióticos en sistemas que simulen diferentes tipos de alimentos. En este sentido, los polisacáridos se han utilizado a nivel industrial principalmente para modificar la textura de los alimentos. La goma Gellan es un heteropolisacárido extracelular aniónico producido por la bacteria *Sphingomonas paucimobilis*, que consiste en unidades repetitivas de un tetrasacárido (1,3-β-D-glucosa; 1,4-β-D-ácido glucurónico; 1,4 β-D-glucosa; y 1,4-α-L-ramnosa). Está disponible en dos presentaciones: gellan de alto acilo (HAG) y gellan de bajo acilo (LAG). El HAG forma geles blandos y elásticos, mientras que el LAG forma geles fuertes y quebradizos. Las mezclas de los dos gellan pueden producir geles con propiedades variadas

en función de las proporciones de cada gellan (Huang et al., 2003).

Aunque la mayoría de los estudios se han centrado en sistemas compuestos por agentes gelificantes como gelatina, agar, goma xantana y κ -carragenano que contienen caldo nutritivo (Aspidou et al., 2014; Velliou et al., 2013; Wang et al., 2017) o agente gelificante proteico (Boons et al., 2014, Léonard et al., 2015). En la actualidad, no existen investigaciones sobre la modelización del crecimiento de probióticos en un modelo de sistema alimentario con diferente complejidad estructural. Se ha observado que la concentración y el tipo de polisacárido modifican las propiedades reológicas de los sistemas alimentarios (González et al., 2012).

Los estudios reológicos dinámicos son fundamentales porque proporcionan

información sobre el proceso de gelificación de los polisacáridos. Además, pueden utilizarse para mejorar los atributos texturales aportados por la goma gellan a los productos alimentarios (Nickerson et al., 2004). En el análisis de la dinámica reológica, los principales parámetros empleados para caracterizar un sistema son: el módulo de almacenamiento (G'), el módulo de pérdida (G'') y el ángulo de fase (δ), siendo G' una medida de la energía almacenada temporalmente en un material, G'' una medida de la energía utilizada para activar un flujo y δ indica la relación cuantitativa entre los componentes viscosos y elásticos de un sistema (Jiménez-Avalos et al., 2005). Por lo tanto, el objetivo principal de este trabajo fue estudiar los parámetros de crecimiento de *Lactobacillus delbrueckii* en un sistema viscoelástico elaborado a partir de mezclas de goma gellan.

MATERIALES Y METODOS

Preparación del inóculo

Se incorporó Lactobacillus delbrueckii en 10 mL de caldo nutritivo a 37°C durante 24 horas. A continuación, los microorganismos se cultivaron hasta alcanzar la fase de crecimiento exponencial. El recuento de células bacterianas se llevó a cabo por el método de recuento en placa superficial utilizando

agar MRS. El recuento bacteriano inicial se ajustó a 2 log unidades formadoras de colonias (UFC)/mL. Cada análisis se realizó por triplicado.

Preparación de sistemas viscoelásticos

Inicialmente, se prepararon dispersiones de LAG y HAG al 0,5% (p/v) por separado en agua destilada a 90°C bajo agitación durante 10 min. Para el sistema binario, se

preparó una mezcla de LAG y HAG (proporción 1:1) en un tubo de ensayo. Las dispersiones mencionadas se añadieron con inulina. Para iniciar el proceso de gelificación, se incorporaron iones de calcio con el fin de promover la auto asociación entre las hélices de gellan. A continuación, se inocularon 2 log UFC de *L. delbrueckii* por cada preparación. Para obtener la curva de crecimiento microbiano, se procesó una muestra cada 40 minutos. Por último, se llevó a cabo la enumeración de células viables de recuento a 37 °C en placas de Petri que contenían agar MRS, informando de la cantidad de bacterias en UFC/g. Cada análisis se realizó por triplicado.

Prueba reológica dinámica

Todas las pruebas se realizaron con un reómetro de tensión de control MARS 60 utilizando una geometría de placa paralela de 20 mm de diámetro. Se realizó un barrido de amplitud para determinar la zona de viscoelasticidad lineal (LVZ), que se obtiene cuando el módulo de almacenamiento (G') y el módulo de pérdida (G'') son independientes de la amplitud. G' representa la parte elástica de la respuesta del material (su significa la rigidez de un gel), mientras que G'' representa la respuesta viscosa. La tangente de pérdida ($\tan \delta = G''/G'$) proporciona una indicación de si el material

se aproxima más a un sólido elástico ($\tan \delta < 1$), o a un fluido viscoso ($\tan \delta > 1$).

Modelización matemática

Los datos experimentales obtenidos de las curvas de crecimiento de *L. delbrueckii* se ajustaron a los modelos de Gompertz y Huang (Baranyi Roberts, 1994; Huang, 2013; Zwietering et al., 1997).

El modelo Gompertz es el siguiente:

$$\left[Y = y_0 + (y_{max} - y_0) * \exp \left\{ - \exp \left[\frac{\mu_{max}^e}{y_{max} - y_0} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \right]$$

Donde y_0 , y_{max} e $y(t)$ son la concentración bacteriana en logaritmo natural al inicio, al máximo y en el tiempo t ; μ_{max} es la tasa de crecimiento específica; y λ es la duración de la fase de latencia.

El Huang es el siguiente:

$$\left[Y(t) = y_0 + y_{max} - \ln \left\{ e^{y_0} + [e^{y_{max}} - e^{y_0}] e^{-\mu_{max} B(t)} \right\} \right]$$

$$\left[B(t) = t + \frac{1}{\alpha} \ln \frac{1 + e^{-\alpha(t-\lambda)}}{1 + e^{-\alpha\lambda}} \right]$$

Donde y_0 , y_{max} e $y(t)$ son la concentración bacteriana en logaritmo natural inicial, máxima, en el tiempo t ; μ_{max} es la tasa de crecimiento específica y λ es la duración de

la fase de latencia. El coeficiente de la fase de latencia es α 4.

Análisis estadístico

Los parámetros de crecimiento de *L. delbrueckii* obtenidos mediante los

modelos de Huang y Gompertz se analizaron empleando ANOVA (una vía) para determinar diferencias significativas ($p < 0,05$). Para ello se utilizó el programa SPSS (versión 23.0 para Windows).

RESULTADOS Y DISCUSION

Análisis reológico dinámico

Los cambios en los parámetros viscoelásticos, almacenamiento (G'), módulos de pérdida (G'') y ángulo de fase ($\tan \delta$) se presentan en la Tabla 1, donde el comportamiento elástico fue mayor que el viscoso ($G' > G''$) para todos los sistemas de gellan estudiados, lo que indica que estos sistemas tienen propiedades viscoelásticas. Asimismo, se apreciaron diferencias estadísticas en los módulos G' y G'' entre los sistemas HAG, LAG y HAG/LAG. Se obtuvo una tangente de pérdida $\tan \delta < 1$, lo que significa que el componente elástico domina las propiedades de flujo. Este comportamiento característico indica que todos los sistemas

preparados se comportan como geles fuertes según Mounsey & O'Riordan, (1999).

Para el sistema LAG G' fue 1,90 veces mayor que G'' , mientras que para el sistema HAG esta diferencia fue de 6,86. Cabe destacar que la mezcla HAG/LAG presentó el mayor valor de G' (2400) con respecto al gellan puro (HAG y LAG), esto probablemente se deba a una interacción entre ambos gellan como resultado de la formación de enlaces de hidrógeno. Estos hallazgos concuerdan con los de González et al., (2012) quienes encontraron valores más altos de G' en mezclas de HAG/LAG que en gellan puro.

Tabla 1. Comportamiento de G' , G'' y $\tan \delta$ en un sistema viscoelástico a base de gellan

muestras	G'	G''	$\tan \delta$
HAG	84 ^a	12,23 ^a	0,14 ^a
LAG	270 ^b	142 ^b	0,52 ^b
HAG/LAG	2400 ^c	118 ^c	0,04 ^c

Las filas sin letras comunes mostraron diferencias estadísticamente significativas (nivel de significación $< 0,05$)

Con respecto a $\tan \delta$, se alcanzaron valores entre 0,04 y 0,52, siendo 0,04 el valor más bajo de $\tan \delta$ que corresponde a la mezcla HAG/LAG; mientras que el valor más alto fue 0,52 para el sistema LAG. El valor para HAG fue de 0,14. Así mismo este comportamiento coincide con los resultados reportados por González et al., (2012) quienes observaron un fuerte comportamiento de gel para geles elaborados con goma gellan. Aplicando el análisis estadístico ANOVA (unidireccional) a todos los parámetros viscoelásticos (G' , G'' y $\tan \delta$), se revelaron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre HAG, LAG y su mezcla HAG/LAG. Como ya se ha mencionado, los análisis reológicos son fundamentales porque proporcionan información sobre los mecanismos de gelificación de los hidrocoloides. Además, es bien sabido que los hidrocoloides tienen diversas propiedades reológicas que podrían afectar al crecimiento microbiano (Kapetanakou et al., 2011). Asimismo, un entorno viscoelástico se considera un factor de estrés (Costello et al., 2018).

Ajuste de la curva de crecimiento

El log de UFC de *L. delbrueckii* obtenido de cada sistema viscoelástico se ajustó a modelos primarios como puede verse en la figura 1; donde se aprecian tres tendencias guiadas más por la proporción de gellan

que por el modelo utilizado para predecir los datos. El ajuste a cada modelo permite determinar los parámetros de crecimiento (Y_0 , Y_f , μ_{max} y λ). La tabla 1 muestra los parámetros de crecimiento de los modelos de Huang y Gompertz utilizados para evaluar el comportamiento de *L. delbrueckii* crecido en materiales viscoelásticos a base de goma gellan, donde se valora la influencia de la HAG y LAG sobre algunos parámetros de crecimiento de *L. delbrueckii* indicando que las proporciones de gellan tuvieron efecto sobre el crecimiento microbiano.

Sin embargo, los valores del recuento inicial de células (Y_0) no variaron significativamente ($p < 0,05$) con la presencia de HAG, LAG o su mezcla HAG/LAG en los dos modelos aplicados (Huang y Gompertz), lo que demuestra que este parámetro podría estar controlado por el número de bacterias probióticas incorporadas a los sistemas de geles. Los valores de Y_0 fueron similares para ambos modelos, siendo de 2.300 para el modelo de Huang y de 2.280 para el modelo de Gompertz en el sistema HAG. Para la mezcla basada en HAG/LAG se obtuvo un valor de 2,313 en el modelo de Huang, mientras que para el modelo de Gompertz se alcanzó un valor de 2,202. También se observó un comportamiento similar para ambos modelos en el sistema LAG.

El valor más alto de la fase de latencia (λ) en el modelo de Huang se obtuvo para el sistema HAG/LAG con 86,903 seguido de los sistemas LAG y HAG con 33,620 y 30,602 respectivamente. Cuando se aplicó el modelo Gompertz, los valores λ fueron 86,350 (HAG/LAG), 36,046 (LAG) y 24,444 (HAG). Cuando se empleó el modelo Huang se obtuvo un rendimiento similar. Significa, que se apreciaron diferencias estadísticas ($p < 0,05$) en λ entre todos los sistemas. Curiosamente, los valores más bajos de λ correspondieron a las bacterias cultivadas en el sistema viscoelástico con los valores bajos de G' y viceversa, los valores más altos de λ fueron para las bacterias cultivadas en los sistemas con alto valor de G' . La λ es una fase de adaptación de los microorganismos al medio de cultivo.

Por lo tanto, es importante considerar este parámetro para reducir el tiempo de fermentación de algunos alimentos fermentados, lo que implica que se necesitan valores bajos de λ para mejorar el tiempo de fermentación. Así, el sistema basado únicamente en HAG es más eficiente para fabricar alimentos funcionales, debido a que tenía los valores λ y G' más bajos en comparación con otros sistemas viscoelásticos.

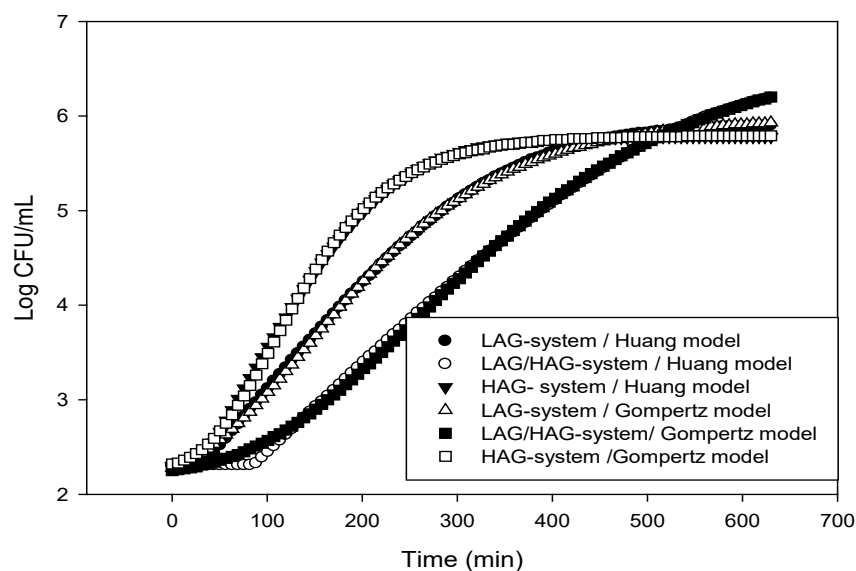


Figure 1. Predicted values of *L. delbrueckii* growth applying Huang and Gompertz models

En cuanto a la tasa de crecimiento máxima (μ); en el modelo de Huang, el valor más alto se obtuvo para el sistema HAG con 0,019 seguido por el sistema LAG con 0,013 y el sistema HAG/LAG con 0,010. Estos valores de μ son superiores a los comunicados por Antunes-Rohling et al., (2019) sobre microorganismos transmitidos por los alimentos, lo que significa que *L. delbrueckii* superó rápidamente a las demás bacterias. Los bajos valores de μ probablemente se deben a las limitaciones de nutrientes, oxígeno y metabolitos producidas por la inmovilización celular, lo que provoca un estrés ambiental (Jeanson et al., 2015; Skandamis y Jeanson, 2015).

Cuando se aplicó el modelo de Gompertz, los valores de μ calculados para los sistemas HAG, HAG/LAG y LAG fueron de 0,019, 0,010 y 0,012, respectivamente. Es decir, un comportamiento similar a los parámetros reológicos. Hay que hacer constar que se presentaron valores bajos de G' para el sistema HAG. A mayores valores de μ , menor módulo G' . En término general, μ se vio afectado significativamente ($p < 0,05$) por la proporción de goma gellan. Estos resultados son contrarios a los reportados por Boons et al., (2013) quienes afirmaron un efecto insignificante del sistema

estructurado a base de goma xantana, carragenina y gelatina sobre la tasa de crecimiento microbiano.

Con respecto a la población máxima de células (Y_{max}), que es la concentración microbiana máxima alcanzada por las bacterias al final de la fase logarítmica. Este parámetro también es relevante para la optimización de alimentos funcionales debido a que el rango de probióticos dentro de las matrices alimentarias debe estar entre 10^6 y 10^7 UFC/g para que el consumidor perciba los efectos beneficiosos asociados a la ingesta de probióticos (Tripathi y Giri, 2014). Los valores de este parámetro (Y_{max}) dependen de la composición nutricional del medio de cultivo.

El valor más alto de Y_{max} fue de 6.472 para el sistema HAG, seguido de 5.921 para el sistema LAG y 5.780 para el sistema HAG cuando se utilizó el modelo de Huang para calcularlos. Se obtuvieron valores similares cuando se aplicó el modelo de Gompertz. Costello et al., (2018) encontraron que pequeñas diferencias en los parámetros de crecimiento de *Listeria innocua* que crece en el sistema viscoelástico basado en la goma xantana se pueden atribuir a tipo de hidrocoloide y su alta concentración.

Tabla 2. Parámetros de crecimiento de *Lactobacillus delbrueckii* en diferentes sistemas basados en la goma gellan

Modelo	Parametros	HAG	HAG/LAG	LAG
Huang	Y_0 (log CFU)	2,300 ^a	2,313 ^a	2,310 ^a
	λ (min)	30,602 ^a	86,903 ^b	33,620 ^c
	Y_{max} (log CFU)	5,780 ^a	6,472 ^b	5,921 ^a
	μ_{max} (min ⁻¹)	0,019 ^a	0,010 ^b	0,013 ^b
Gompertz	Y_0 (log CFU)	2,280 ^a	2,202 ^a	2,142 ^a
	λ (min)	24,444 ^a	86,350 ^b	36,046 ^c
	Y_{max} (log CFU)	5,791 ^a	6,671 ^b	5,985 ^a
	μ_{max} (min ⁻¹)	0,019 ^a	0,010 ^b	0,012 ^b

Las filas sin letra común mostraron diferencias estadísticamente significativas (nivel de significación < 0,05)

En resumen, las proporciones de gellanos (HAG y LAG) afectan principalmente la tasa máxima de crecimiento (μ) y la fase de latencia (λ), mientras que no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) para Y_0 y Y_{max} . Los valores μ más altos encontrados en el sistema viscoelástico

hecho de HAG indican que *Lactobacillus delbrueckii* crece más rápido en HAG con respecto al LAG y la mezcla HAG/LAG. Asimismo, el sistema basado en HAG tenía el valor λ más bajo, por lo que podría estar considerando modificar o crear nuevos productos alimenticios que contengan bacterias probióticas.

CONCLUSIONES

El análisis de los parámetros de crecimiento de una bacteria probiótica como *L. delbrueckii* cultivada en el sistema viscoelástico basado en la goma gellan se informa por primera vez. Se emplearon los modelos Huang y Gompertz para calcular los parámetros de crecimiento que indicaban que la goma gellan de alto y bajo acilo tenía un efecto significativo principalmente en la fase de latencia y la tasa máxima de crecimiento, mientras que no se observó influencia para los parámetros Y_0 y Y_{max} . El comportamiento de estos parámetros (Y_0 y Y_{max}) sugiere

que pueden ser controlados por la composición nutricional y el número inicial de bacterias probióticas incorporadas al sistema viscoelástico. Todos los sistemas analizados se comportan como materiales predominantemente elásticos. El módulo elástico (G') es inversamente proporcional a la tasa máxima de crecimiento. El alto valor de la tasa máxima de crecimiento encontrado en el sistema HAG indica que *L. delbrueckii* crece más rápido en HAG que los sistemas LAG y HAG/LAG. Cabe señalar que los resultados obtenidos aquí pueden ser útiles para desarrollar nuevos productos alimenticios.

REFERENCES

- Antunes-Rohlinga A., Artaiza, A., Calero, S., Halaihel, N., Guillén, S., Raso, J., Álvarez, I., Cebrián, G. (2019). Modelling microbial growth in modified-atmosphere-packed hake (*Merluccius merluccius*) fillets stored at different temperatures. *Food Res Int.*, 122, 506–516
- Arroyo-López, F., Bautista-Gallego, J., Garrido-Fernández, A. (2012). Role of Predictive Microbiology in Food Preservation. *Progress in Food Preservation*, First Edition. Edited by Rajeev Bhat, Abd Karim Alias and Gopinadhan Paliyath. Published by John Wiley & Sons, Ltd.
- Aspridou, Z., Moschakis, T., Biliaderis, C.G., Koutsoumanis, K.P. (2014). Effect of the substrate's microstructure on the growth of *Listeria monocytogenes*. *Food Res Int*, 64, 683–691.
- Baranyi, J. and Roberts, T.A. (1994). A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. *Int. J. Food Microbiol*, 23, 277–294.
- Boons, K., Noriega, E., Van den Broeck, R., David, C.C., Hofkens, J., Van Impe, J.F. (2014). Effect of microstructure on population growth parameters of *Escherichia coli* in gelatin-dextran systems. *Appl. Environ. Microbiol*, 80, 5330–5339.
- Boons, K., Van Derlinden, E., Mertens, L., Peeters, V., Van Impe, J.F. (2013). Effect of immobilization and salt concentration on the growth dynamics of *Escherichia coli* K12 and *Salmonella Typhimurium*. *J. Food Sci*, 78, 567–57.
- Costello, K., Gutierrez-Merino J., Bussemaker M., Ramaioli M., Baka M., Van Impec J. Velliou E. (2018). Modelling the microbial dynamics and antimicrobial resistance development of *Listeria* in viscoelastic food model systems of various structural complexities. *Int. J. Food Microbiol*, 15–30.
- González-Cuello, R.E., Ramos-Ramírez, E.G., Oruz-Orea, A. and Salazar-Montoya, J. (2012). Rheological characterization and activation energy values of binary mixtures of gellan. *Eur. Food Res. Technol*, 234(2012), 305–313
- González Cuello, R., Morón Alcázar, L., Pedraza Galván, K. (2020). Modeling the effect of storage temperature on the growth rate of *Lactobacillus delbrueckii*

- in Colombian coastal cheese. *Sylwan journal*, 164 (3), 293 – 303.
- Huang, Y., Tang, J., Swanson, G., Cavinato, A., Lin, M., Barbara, A. (2003) Near infrared spectroscopy: a new tool for studying physical and chemical properties of polysaccharide gels. *Carb. Polym*, 53, 281–288.
- Jeanson, S., Flourey, J., Gagnaire, V., Lortal, S., Thierry, A., (2015). Bacterial colonies in solid media and foods: a review on their growth and interactions with the microenvironment. *Front. Microbiol.* 6.
- Jiménez-Avalos, H.A., Ramos-Ramírez, E.G., Salazar-Montoya, J.A. (2005) Viscoelastic characterization of gum arabic and maize starch mixture using the Maxwell model. *Carb Polym* 62, 11–18.
- Kapetanakou, A.E., Ampavi, A., Yanniotis, S., Drosinos, E.H., Skandamis, P.N., 2011. Development of a model describing the effect of temperature, water activity and (gel) structure on growth and ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* in vitro and evaluation in food matrices of different viscosity. *Food Microbiol*, 28, 727–735.
- Léonard, L., Beji, O., Arnould, C., Noirot, E., Bonnotte, A., Gharsallaoui, A., Degraeve, P., Lherminier, J., Saurel, R., Oulahal, N. (2015). Preservation of viability and anti-*Listeria* activity of lactic acid bacteria, *Lactococcus lactis* and *Lactobacillus paracasei*, entrapped in gelling matrices of alginate or alginate/caseinate. *Food Control*, 47, 7–19.
- Mounsey, J. S., & O’Riordan, E. D. (1999). Empirical and dynamic rheological data correlation to characterize melt characteristics of imitation cheese. *J. Food Sci*, 64, 701–703.
- Nickerson, M.T., Paulson, A.T., Speers, R.A. (2004). Time-temperature studies of gellan polysaccharide gelation in the presence of low, intermediate and high levels of co-solutes. *Food Hydrocol*, 18, 783–794.
- Sanders, M., Guarner, F., Guerrant, R., Holt, P., Quigley, E., Sartor, R., Sherman, P., Mayer, E. (2013). An update on the use and investigation of probiotics in health and disease. *Gut* 62(5), 787-796.
- Skandamis, P.N., Jeanson, S. (2015). Colonial vs. planktonic type of growth: mathematical modelling of microbial dynamics on surfaces and in liquid, semi-liquid and solid foods. *Front, Microbiol.* 6.

Szczawiński, J. (2012). Predictive microbiology – practical applications. *Med Weter*, 68, 540-543.

Tripathi, S. and Giri, S. (2014). Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *J. Funct. Foods*, 9, 225-241.

Velliou, E.G., Noriega, E., Van Derlinden, E., Mertens, L., Boons, K., Geeraerd, A.H., Devlieghere, F., Van Impe, J.F., 2013. The effect of colony formation on the heat inactivation dynamics of *Escherichia coli* K12 and *Salmonella typhimurium*. *Food Res. Int*, 54, 1746–1752

Wang, X., Devlieghere, F., Geeraerd, A., Uyttendaele, M. (2017). Thermal inactivation and sublethal injury kinetics of *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in broth versus agar surface. *Int. J. Food Microbiol.* 243, 70–77.

Zwietering, M.H., Jongenburger, I., Rombouts, F.M., and Van'treit, K. (1990). Modeling of the bacterial growth curve. *App. Environ. Microbiol*, 56, 1875–1881