



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

**INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD
ÁREA ACADÉMICA DE NUTRICIÓN**

**Efecto de la temperatura y pH sobre la
extracción de β -glucanos de cebada y
evaluación de la capacidad de emulsificación
y retención de agua.**

T E S I S

**Que para obtener el título de
Licenciada en Nutrición**

P R E S E N T A

MARIANA GONZÁLEZ LARA

**Bajo la Dirección de:
Dr. Ernesto Alanís García**



Pachuca, Hgo., Septiembre 2011.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	iv
ÍNDICE DE TABLAS	iv
ABREVIATURAS	v
1. RESUMEN	1
ABSTRACT	2
2. MARCO TEÓRICO	3
2.1 CEBADA	4
2.1.1 Utilización de la cebada	5
2.1.2 Producción de cebada.....	6
2.1.3 Valor nutritivo de la cebada.....	7
2.2 FIBRA DIETÉTICA	9
2.2.1 Propiedades fisicoquímicas de la fibra dietética.....	10
2.2.2 Propiedades funcionales de la fibra dietética	11
2.2.3 Requerimientos de fibra dietética	12
2.3 β-GLUCANOS	12
2.3.1 Propiedades tecnológicas y efectos fisiológicos de β-glucanos	14
2.3.1.1 Viscosidad.....	15
2.3.1.2 Capacidad de emulsificación	16
2.3.1.3 Capacidad de retención de agua	17
2.3.2 Beneficios para la salud de los β-glucanos	17
2.3.3 Recomendaciones de ingesta de β-glucanos.....	20
2.4 OBTENCIÓN DE AISLADOS DE β-GLUCANOS	21
3. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	23
4. JUSTIFICACIÓN	24
5. OBJETIVOS	25
5.1 OBJETIVO GENERAL	25
5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
6. METODOLOGÍA	26
6.1 DESARROLLO METODOLÓGICO	26

6.2 SELECCIÓN DEL GRANO	28
6.3 ACONDICIONAMIENTO DEL GRANO Y MOLIENDA	28
6.4 CUANTIFICACIÓN DE β-GLUCANO EN HARINA, SÉMOLA, SALVADO, PRECIPITADO Y SOBRENADANTE	30
6.5 OBTENCIÓN DE EXTRACTOS DE β-GLUCANOS (EβG)	31
6.6 CUANTIFICACIÓN DE EβG	32
6.7 ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL DE LOS EβG	34
6.7.1 Determinación de proteínas	34
6.7.2 Determinación de humedad	35
6.7.3 Determinación de cenizas	35
6.7.4 Determinación de grasas	36
6.7.5 Determinación de almidón.....	37
6.8 PROPIEDADES FUNCIONALES DE LOS EβG	38
6.8.1 Capacidad de emulsificación	38
6.8.2 Capacidad de retención de agua	39
6.8.3 Gelificación.....	39
6.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	40
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41
7.1 RENDIMIENTO DE LA MOLIENDA	41
7.2 EXTRACCIÓN Y PUREZA DE β-GLUCANOS	42
7.3 EXTRACCIÓN Y PUREZA DE EβG	43
7.4 ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL DE LOS EβG	46
7.4.1 Proteínas.....	47
7.4.2 Almidón	49
7.5 PROPIEDADES FUNCIONALES DE LOS EβG	49
7.5.1 Capacidad de emulsificación.....	49
7.5.2 Capacidad de retención de agua	51
7.5.3 Gelificación.....	52
8. CONCLUSIONES	55
9. RECOMENDACIONES	56
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57
ANEXOS	63

ÍNDICE DE FIGURAS

1. Estructura del grano de cebada	5
2. Producción de cebada en México	7
3. Estructura generalizada de β -glucanos de cereales y sus ramificaciones.....	13
4. Ubicación del β -glucano en el grano de cebada y representación esquemática de la estructura de β -glucano de cebada	13
5. Esquema del diseño metodológico	27
6. Reacciones para la cuantificación de β -glucanos	32
A. Reacción enzimática con liquenasa y β -glucosidasa.....	32
B. Reacción de la enzima con glucosa oxidasa y peroxidasa	32
7. Resultado de los gramos de los E β G de la mezcla H-S	44
8. Porcentaje de pureza de los E β G de la mezcla H-S	46
9. Porcentaje de la capacidad de emulsificación de los E β G de la mezcla H-S ...	50
10. Porcentaje de capacidad de retención de agua de los E β G de la mezcla H-S.....	51

ÍNDICE DE TABLAS

1. Composición nutrimental de la cebada	8
2. Definiciones propuestas para fibra	10
3. Recomendaciones de ingestión de fibra para la población en México	12
4. Porcentaje de rendimiento de harina, sémola y salvado.....	41
5. Valores de β -glucanos por cada una de las diferentes etapas de extracción.....	42
6. Composición química proximal de los los E β G	48
7. Descripciones de geles de los E β G a a diferentes concentraciones	53

ABREVIATURAS

AGCC	Ácidos Grasos de Cadena Corta
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
CE	Capacidad de Emulsión
CRA	Capacidad de Retención de Agua
E β G	Extractos de β -glucanos
FAO	Food and Agriculture Organization
FDA	Agencia de alimentos y medicamentos (FDA por sus siglas en inglés)
GOPOD	Glucosa Oxidasa/Peroxidasa
HDL	Lipoproteínas de alta densidad (HDL por sus siglas en inglés)
HMG-CoA	3-hidroxi-3-metilglutaril Coenzima A
H-S	Harina-Sémola
LDL	Lipoproteínas de baja densidad (LDL por sus siglas en inglés)
OMS	Organización Mundial de la Salud
TMAC	Tasa Media Anual de Crecimiento

1. RESUMEN

Los β -glucanos son polisacáridos que consisten en residuos de glucosa unidos por enlaces beta (1 \rightarrow 3) (1 \rightarrow 4)- β -D-glucano (β -glucano). En la cebada y avena se encuentran principalmente concentradas en el endospermo. El consumo de fibra de cebada tiene efectos benéficos para la salud, como reducción de riesgos de enfermedades cardiovasculares, diabetes, cáncer de colon, esto debido a la función de los β -glucanos en el organismo y a sus propiedades funcionales. El objetivo de este estudio fue realizar extracción de β -glucanos de cebada mediante combinaciones de pH (7, 8, 9 y 10) y temperatura (40, 50 y 55 °C), para evaluar su capacidad de emulsificación (CE) y retención de agua (CRA). Con los extractos obtenidos, se analizó el porcentaje de pureza de los extractos de β -glucanos (E β G). Posteriormente se realizó un análisis químico proximal de los E β G, y por último se determinaron la CE y CRA. Las mejores combinaciones de extracción fueron a pH 8 y 9/55 °C (3.29 y 3.17 g EBG/100 g H-S respectivamente) ($p < 0.05$). La combinación que obtuvo el mejor porcentaje de pureza fue a pH 10/55 °C con un 81% (en base seca) ($p < 0.05$). El análisis químico proximal de los extractos mostró que la combinación pH 7/40 °C obtuvo mayor porcentaje de proteína y cenizas (60 y 14.70 % respectivamente), el porcentaje de grasa no fue detectable en los extractos, observándose un incremento en el contenido de β -glucanos y una disminución de proteína al aumentar el pH y temperatura. La CE mostró ser mejor a pH 7/40 °C, el cual llegó a emulsionar hasta un 97 %, lo cual está probablemente relacionado con el porcentaje de proteína, mientras que la CRA incrementó al aumentar la temperatura y pH de extracción, como resultado del incremento de β -glucanos en los extractos, mostró una tendencia inversa, a mayor temperatura y pH mayor CRA, siendo la combinación pH 10/55 °C la que mayor retención tuvo (8.26 g de agua/g de peso seco) ($p < 0.05$). Se concluyó que tanto el pH como la temperatura afectan en la extracción, composición química y propiedades funcionales.

Palabras clave: cebada, β -glucanos, fibra dietética, propiedades funcionales.

ABSTRACT

β -glucans are polysaccharides consisting of glucose residues linked by beta bendings (1 \rightarrow 3) (1 \rightarrow 4) - β -D-glucan (β -glucan). In barley and oats are mainly concentrated in the endosperm. The fibre intake of barley has beneficial health effects such as reduced risk of cardiovascular disease, diabetes, colon cancer, among others, this due to the role of β -glucans in the body and its functional properties. The aim of this study was make barley β -glucans extractions by combining pH (7, 8, 9 and 10) and temperature (40, 50 and 55 °C), to evaluate their emulsification capacity (EC) and water-retention capacity (WRC). With the extracts obtained, the purity percentage of the extracts of β -glucans (E β G) were analyzed. Subsequently, proximal chemical analysis of the E β G was made, and finally the EC and WRC were determined. The best extraction combinations were at pH 8 and 9/55 °C (3.29 y 3.17 g E β G/100 g F-S respectively) ($p < 0.05$). The combination that had the best combination was at pH 10/55 °C with a purity of 81% (dry basis) ($p < 0.05$). Proximal chemical analysis of extracts showed that the combination at pH 7/40 °C had the highest percentage of protein and ash (60 and 14.70% respectively), fat percentage was not detectable in the extracts, with an increase in the content of β -glucans and a decrease in the protein, when the pH and temperature increased. As for their functional properties, the EC proved to be better at pH 7/40 °C, which came to emulsify up to 97%, which is probably closely related to the percentage of protein, while WRC increased with rissing temperature and pH of extraction, as a result of increased β -glucans in the extracts, showed a reverse trend, to higher temperatures and higher pH better WRC, being pH 10/55 °C which had the higher retention (8.26 g water / g dry weight) ($p < 0.05$). It was concluded that both pH and temperature affected the extraction, chemical composition and functional properties.

Key words: barley, β -glucan, dietetic fibre, functional properties.

2. MARCO TEÓRICO

Los cereales son una de las principales fuentes de alimentación para la humanidad. Se estima que los cereales aportan más de 50% de la energía total consumida por la población humana. Los países subdesarrollados o en vías de desarrollo, dependen más aún de los nutrientes proporcionados por los cereales, porque constituyen una excelente fuente de energía requerida para el crecimiento y desarrollo (López *et al.*, 2007).

En años recientes, los cereales han sido estudiados debido a su uso en el desarrollo de alimentos funcionales. Estos representan aproximadamente el 73% del total de las cosechas en el mundo y contribuyen con alrededor del 60% de la producción de alimentos en el mundo, proporcionando fibra dietética, proteínas, energía, vitaminas y minerales requeridos para la salud humana (Charalampopoulos *et al.*, 2002).

Existe un gran interés en la cebada como ingrediente de alimentos funcionales, debido principalmente por su contenido de fibra soluble, en especial de β -glucanos, los cuales se encuentran en su mayoría en la harina obtenida de este cereal (Casiraghi *et al.*, 2006).

En las últimas dos décadas, la aceptación de β -glucanos como ingredientes bioactivos y funcionales ha incrementado el consumo de alimentos a base de cereales (Lazaridou y Biliaderis, 2007).

2.1 CEBADA

La cebada fue probablemente la primera especie cultivada de forma planificada, y era ya conocida por los sumerios y los asirios hacia el año 5000 a.C. (De Peña, 2000). La cebada se utilizó como grano para pan por los griegos y romanos antiguos (Kent, 1987).

La cebada (*Hordeum vulgare*) pertenece a la familia de las gramíneas, sus hojas están integradas por las espiguillas, que se encuentran unidas directamente al raquis, dispuestas de forma que se recubren unas a otras; las glumas son alargadas y agudas en su vértice y las glumillas están adheridas al grano (www.financierarural.gob.mx, 2010).

En un corte transversal del grano de cebada, se han descrito tres partes claramente diferenciadas (De Peña, 2000) (figura 1):

1. **Las cubiertas externas**, de carácter fibroso e indigeribles, se conocen habitualmente con el nombre de salvado, que lo constituye el pericarpio y la testa.
2. **El endospermo**, o núcleo central del grano, está constituido, desde el punto de vista botánico, por el endospermo amiláceo (70-80% del grano) y la capa de aleurona.
3. **El germen del grano (o embrión)**, se localiza cerca de la base del grano y se une al endospermo a través del escutelo.

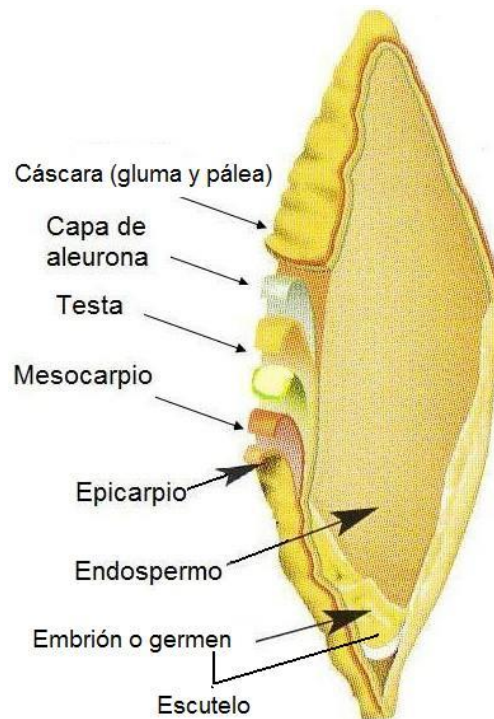


Figura. 1. Estructura del grano de cebada.
Fuente y modificada: Pamplona, 2004.

2.1.1 Utilización de la cebada

Los principales usos que se le han dado a la cebada son para la alimentación de animales, en forma de harina de cebada, para maltear para la obtención de mostos en la elaboración de cerveza y para destilar en la fabricación de “whisky” (Kent, 1987).

En México el cultivo de la cebada se orienta básicamente a la elaboración de malta para la producción de cerveza. La malta se usa también para la fabricación de productos alcohólicos destilados como el whisky, jarabes, en sustitutos de café y algunos alimentos a base de cereales. Algunos de los derivados de la malta son subproductos de la cerveza que son utilizados como alimento para animales,

productos químicos y productos solubles adicionados a alimentos balanceados para ganado y aves de corral.

La cosecha se realiza en forma combinada, cuando la humedad del grano es de 13.5%, cuando el grano está maduro y seco, no es recomendable cosechar con más de 16.5% de humedad del grano (www.financierarural.gob.mx, 2010).

Particularmente en México, aproximadamente el 70% de la cebada que se produce es específica para ser utilizada por la industria maltera y el 30% restante corresponde a variedades que se utilizan fundamentalmente para alimentación de ganado (Fundación Guanajuato Produce, 2010).

2.1.2 Producción de cebada

A nivel nacional, la producción de cebada en 2008 fue de 796.86 miles de toneladas, lo que representó un aumento del 22 % respecto al año anterior y una disminución de 8.3 % con respecto a 2006. Como se puede observar en la figura 2, en México, la producción de cebada se encuentra concentrada en cuatro estados: Guanajuato (30.8 %), Hidalgo (30.4 %), Tlaxcala (11.3 %) y el Estado de México (7.9 %) (www.financierarural.gob.mx, 2010).

La producción en Hidalgo como segundo estado productor de cebada, entre el año 2002 y 2008 registró una producción promedio de 213.39 miles de toneladas por año. Al cierre de 2008, la producción total fue de 242.09 miles de toneladas, 35.8% superior a la producción registrada en 2007. En 2006, Hidalgo alcanzó una producción récord de 262.94 miles de toneladas; sin embargo, a partir de ese año, su producción presenta altas (2008) y bajas (2007), lo cual se ve reflejado en la Tasa Media Anual de Crecimiento (TMAC) del período (2002-2008) de 8.0% (www.financierarural.gob.mx, 2010).

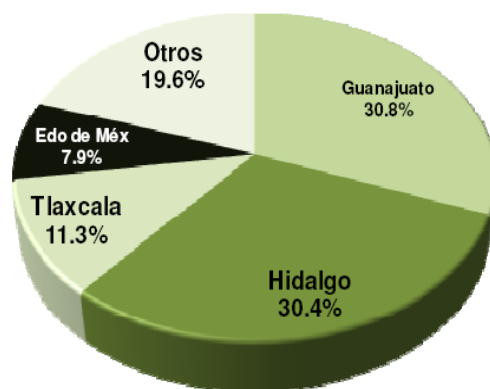


Figura 2 Producción de cebada en México 2008.
Fuente: www.financierarural.gob.mx, 2010.

De acuerdo con la Organización de la Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, por sus siglas en inglés) de 2002 al 2007 México presentó una TACM del consumo de cebada de 2.0 %, en 2002 el consumo aparente presentó un retroceso, en este año el volumen de consumo aparente era de 800 millones de toneladas y para 2007 se alcanzaba la cifra de 975 millones de toneladas (www.financierarural.gob.mx, 2010).

2.1.3 Valor nutritivo de la cebada

En Mayo de 2006, la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA por sus siglas en inglés) establecieron una declaración de beneficios para la salud, en la que permite añadir cebada en los alimentos en donde se sostiene que ésta puede reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares. Específicamente, alimentos preparados con cosechas seleccionadas de cebada deben contener por lo menos 0.75 g de β -glucanos por porción de cebada (20 g). Esta especificación está basada en el consumo de 3 g de esta fibra diariamente, y una dieta baja en grasa saturada y colesterol y alta en vegetales, frutas y granos. Los productos seleccionados de cebada fueron como granos enteros de cebada, cebada perlada, salvado de cebada,

hojuelas de cebada, harina de cebada y sémola de cebada (Newman y Newman, 2008).

El perfil nutricional de la cebada acoplado con diversas propiedades funcionales y sensoriales que son proporcionados por cultivos específicos, se podrían utilizar para el desarrollo de productos que los humanos pudieran consumir (Ames *et al.*, 2006).

El componente más abundante en los cereales es el almidón y, de hecho, junto con las legumbres y las papas, son importantes fuentes de este polisacárido. Sin embargo, su contenido difiere de unos cereales a otros, encontrándose en menor cantidad en la avena, la cebada y el centeno. En cuanto al contenido de agua, hay que tener en cuenta que nunca puede superar el 14% ya que, el grano se enmohece; por ello el almacenamiento se debe realizar en un lugar seco. Por otro lado, el contenido en vitaminas y especialmente en las del grupo B, que son las más abundantes, difiere entre unos cereales y otros (De Peña, 2000). A continuación, en la tabla 1 se muestra la composición nutrimental de la cebada en comparación con la composición de la avena, ya que se ha visto que la cebada muestra mayores cantidades en ciertos nutrimentos que la avena.

Tabla 1. Composición nutrimental de la cebada.

Nutrimentos	% en peso	
	CEBADA	AVENA
Proteínas	12.48	16.89
Lípidos	2.30	6.9
Cenizas	2.6-3.1	3.2
Almidón	65-68	40.1
β -glucano	4.3-5.5	2.2-6.6
Fibra dietética	17.3	10.6
Minerales	1.5-2.5	2.9

Fuente: Cargill, (www.barleyfoods.org, 2011); De Peña, 2000.

2.2 FIBRA DIETÉTICA

Es el componente no digerible de los alimentos de origen vegetal (como cereales, frutas, verduras y leguminosas) que contribuye a una buena salud. Las enzimas del sistema digestivo no degradan éste importante componente de los alimentos; lo que significa que viaja casi intacta a través de todo el sistema digestivo, incluyendo el colon. El hecho de que la fibra no sea digerida por el cuerpo es una de las razones por las que es tan benéfica para la salud (International Food Information Council, 2008).

Recientemente la fibra dietética se ha dividido en dos grupos: hidrosoluble e insoluble. La fibra hidrosoluble disminuye los niveles de colesterol sérico y retrasa la absorción de azúcar, mientras que la fibra insoluble aumenta el volumen de la materia fecal. Sobre la definición de fibra dietética, el U.S. National Academy of Sciences Panel determinó que los efectos de la fibra dietética dependen de la viscosidad y fermentabilidad (Young *et al.*, 2006; Suter, 2005), proporcionando las siguientes categorías, las cuales se muestran en la tabla 2:

1. **Fibra funcional:** son hidratos de carbono fisiológicamente beneficiosos.
2. **Fibra total:** es la suma de la fibra dietética y la fibra funcional.

Tabla 2. Definiciones propuestas para fibra

	DEFINICIÓN	EJEMPLOS
Fibra Dietética	Hidratos de carbono y lignina que se encuentran intrínsecos e intactos en las plantas y que no son digeribles y son absorbidas en el intestino delgado.	Cereales (avena, salvado de trigo, cebada), almidón resistente, oligosacáridos (rafinosa, estaquiosa y verbascosa en leguminosas) y algunos fructanos.
Fibra Funcional	Hidratos de carbono aislados o purificados que no son digeridos y absorbidos en el intestino delgado y que tienen efectos fisiológicos beneficiosos en humanos.	Pectinas o gomas, almidón resistente formado durante procesamiento, y fibras sintéticas (maltodextrina resistente, fructo-oligosacáridos, polidextrosa)
Fibra Total	Suma de la fibra dietética y fibra funcional	

Fuente: International Food Information Council (2008).

2.2.1 Propiedades fisicoquímicas de la fibra dietética

Algunas fibras dietéticas como las pectinas, psyllium, β -glucanos, y gomas tienen propiedades fisicoquímicas únicas que les permite formar soluciones viscosas o geles cuando se mezclan con líquidos (Carabin *et al.*, 2009).

Los componentes de la fibra dietética se clasifican en tres grupos: componentes de la pared celular de los vegetales, polisacáridos utilizados como aditivos alimentarios y compuestos asociados a la fibra (Molina y Martín, 2007).

En el intestino delgado la fibra dietética se disuelve en agua, con lo que aumenta su volumen y su viscosidad. Estas propiedades están asociadas con la disminución del tránsito intestinal y la absorción de nutrientes. En el intestino grueso, la fermentación y el aumento de volumen de los hidratos de carbono no digeribles, definen el papel esencial en el mantenimiento de la salud gastrointestinal, pudiéndose llevar a cabo la

formación de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) (acetato, propionato y butirato) (Molina y Martín, 2007). Las pectinas, β -glucanos, gomas, inulina y oligofructosa son fibras dietéticas que también son fermentadas por bacterias en el colon lo que permite la formación de AGCC y gases (dióxido de carbono, metano e hidrógeno) (Suter, 2005).

Hay evidencias que indican que la fibra dietética se fermenta en el intestino grueso, lo que favorece a un aumento de la microbiota. Se puede considerar a la inulina y a la oligofructosa como alimentos prebióticos, debido a que mejoran el balance de la microbiota (Molina y Martín, 2007).

2.2.2 Propiedades funcionales de la fibra dietética

Las propiedades funcionales de la fibra dietética son las responsables de los efectos fisiológicos que desarrolla y están influenciadas por la matriz estructural de la fibra, la relación fibra insoluble / fibra soluble, el tamaño de partícula, así como el tipo de procesamiento llevado a cabo. Estas propiedades se determinan por lo general *in vitro* y sirven para darnos una idea de su comportamiento *in vivo*, ya que en este medio están sometidas a un entorno fisiológico muy complejo, por sus efectos benéficos para la salud como reducción de enfermedades cardiovasculares, diabetes y prevenir el riesgo de padecer cáncer de colon, y a una serie de mecanismos que pueden modificarla, como por ejemplo el pH y la temperatura. Cuando las fibras son utilizadas en la elaboración de alimentos, las propiedades fisicoquímicas influyen también en las características físicas de éstos, especialmente cuando se usan como agentes gelificantes, espesantes y/o estabilizantes (Valencia y Román, 2006).

2.2.3 Requerimientos de fibra dietética

De acuerdo con el comité de expertos de la FAO/OMS (Prieto y Villaseñor, 2009), la recomendación diaria de fibra dietética total para adultos es de 25 g/día. El rango de recomendaciones entre diversos países alrededor del mundo va desde 21-40 g/día. En el caso de México, los expertos en nutrición (Bourges *et al.*, 2009) recientemente han publicado su recomendación de consumo en diferentes grupos de edad como se muestra en la tabla 3.

Tabla 3. Recomendaciones de ingestión de fibra para la población en México.

Grupo de edad	Recomendaciones de ingestión de fibra para la población en México (g/día)	
	Hombres	Mujeres
Niños 2-4 años	14	14
Niños 5-8 años	18	18
Niños 9-13 años	22	22
Adolescentes 14-18 años	30	26
Adultos 19-50 años	35	30
Adultos mayores de 50 años	30	26

Fuente: Bourges *et al.*, 2009.

2.3 β -GLUCANOS

Los β -glucanos son polisacáridos que consisten en residuos de d-glucopiranosil (Glc_p) unidos por enlaces beta (1→3) (1→4) - β -D-glucano (β -glucano), con bloques de uniones consecutivas (1→4) separadas por una unión simple de uniones (1→3), como se puede observar en la figura 3, la cual muestra las desramificaciones con la enzima liquenasa, la cual hidroliza los enlaces en la cadena de polisacáridos. Estas características estructurales parecen ser determinantes para sus propiedades físicas, como la solubilidad en agua, viscosidad y propiedades de gelificación, así como su acción fisiológica en el tracto gastrointestinal (Lazaridou y Biliaderis, 2007).

Los β -glucanos se encuentran en concentraciones altas en la pared celular de hongos, levaduras y bacterias (Chen y Raymond, 2008), y en cebada y avena principalmente en las paredes celulares de la aleurona y endospermo (Ehrenbergerová *et al.*, 2008). En la figura 4 se puede observar la ubicación del β -glucano en el grano de cebada.

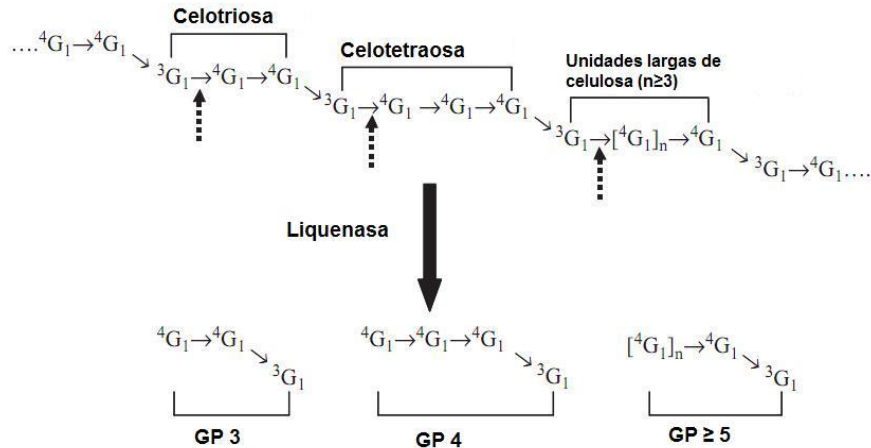


Figura 3. Estructura generalizada de β -glucanos de cereales y sus ramificaciones con liquenasa; las flechas con puntos indican el lugar de la hidrólisis de la liquenasa en la cadena de polisacáridos. G: unidades β -d-glucopiranosil; GP3: 3-O- β -celobiosil-d-glucosa; GP4: 3-O- β -celotriosil-d-glucosa; GP \geq 5: celodextrina como oligosacáridos que contienen más de tres periodos consecutivos de uniones 4-O-de residuos de glucosa.

Fuente: Lizaridou y Biliaderis (2007).

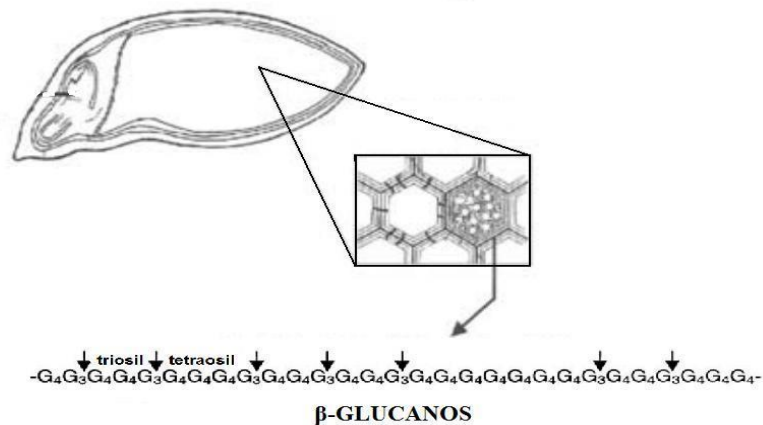


Figura 4. Ubicación del β -glucano en el grano de cebada y representación esquemática de la estructura de β -glucano de cebada. G3 y G4 representan las posiciones en las cuales están unidos los residuos de glucosa. Las flechas muestran la unión β -(1 \rightarrow 4) divididas por la liquenasa. Fuente: Finocchiaro *et al.*, 2005; Fastnaught, 2001.

Las diferencias en los niveles de β -glucanos de cebada se han atribuido a condiciones ambientales de crecimiento, aunque el factor más importante, en cuanto al contenido final de β -glucanos en el grano de cebada, es el genotipo (Ehrenbergerová *et al.*, 2008). Se ha reportado que el incremento del contenido de β -glucanos de cebada está asociado con el gen *waxy* (*wx*), aumentando cuando las condiciones ambientales de crecimiento son secas y calientes, y disminuyendo bajo condiciones húmedas, como la lluvia durante la etapa de maduración (Ehrenbergerová *et al.*, 2008).

En general, el grano de cebada contiene fibra dietética (40 % con respecto a la fibra total, de la cual la mitad es soluble (de 15-19 % de β -glucanos), almidón (47-62 %), tanto grasas como cenizas son similares (2.1-4.2 %) y nitrógeno (2.0-2.4 %) (Keagy *et al.*, 2001).

Los β -glucanos de cebada están asociados con la disminución de colesterol y glucosa en sangre. Estos efectos están relacionados con su habilidad de formar soluciones con alta viscosidad y solubilidad, el cual es controlado por el peso molecular (Symons y Brennan, 2004).

2.3.1 Propiedades tecnológicas y efectos fisiológicos de β -glucanos

Brennan y Cleary (2005), se han enfocado en incluir β -glucanos, tanto de avena como de cebada, en alimentos que son a base de lácteos, mostrando su potencial como ingredientes para manipular la estructura y textura de los alimentos. Desde un punto de vista nutricional y funcional, estos alimentos encajan dentro de la descripción de “alimentos funcionales”, ya que proveen de atributos a los alimentos como textura, y confieren beneficios para la salud (Lazaridou y Biliaderis, 2007).

El uso potencial de β -glucanos como hidrocoloides en la industria alimentaria, se basa principalmente en sus características reológicas, sin embargo, éstos pueden

ser utilizados como agentes espesantes para modificar la textura y apariencia de los alimentos y también se pueden utilizar como un sustituto de grasa disminuyendo el aporte calórico de los alimentos. Las funciones fisiológicas de la fibra dietética, dentro de ellas los β -glucanos, son atribuidas a sus propiedades fisicoquímicas: capacidad de retención de agua, hinchamiento, supresión de la capacidad de difusión (a través de la mejora de la viscosidad y formación de gel) y susceptibilidad o resistencia de degradación y fermentación bacteriana (Lazaridou y Biliaderis, 2007).

Por otro lado, los β -glucanos contribuyen a la saciedad y a la pérdida de peso por varias razones, entre las que se pueden mencionar la ingesta de alimentos a una velocidad menor, retraso en el vaciado gástrico, respuesta moderada de los niveles de glucosa en plasma y secreción de insulina por el páncreas, elevación de la colecistocinina (hormona de la saciedad) y producción de gases y AGCC por la fermentación de fibra en el colon (Lazaridou y Biliaderis, 2007). A continuación, dado su importancia tanto tecnológica como fisiológica, se describen las propiedades de viscosidad, capacidad de emulsificación y de retención de agua.

2.3.1.1 Viscosidad

Los efectos derivados de la viscosidad de los β -glucanos determinan sobre todo las acciones potenciales de estos en el metabolismo lipídico e hidrocarbonado y también, en parte, a su potencial anticarcinógeno. Todos estos efectos derivan del comportamiento de la fibra viscosa en el estómago e intestino delgado. Estas acciones incluyen: a) retraso del vaciamiento gástrico, b) disminución de la absorción de nutrientes (particularmente hidratos de carbono en el intestino delgado), c) atrapamiento de ácidos biliares y carcinógenos y d) disminución de la absorción de ácidos biliares en el íleon terminal (Cabré, 2004).

.

La industria alimentaria está interesada particularmente en viscosificantes naturales y potenciadores de textura también llamados bioespesantes. Las propiedades reológicas y los efectos biológicos de los β -glucanos dependen de su estructura química, concentración, masa molecular y conformación (Velasco *et al.*, 2009).

2.3.1.2 Capacidad de emulsificación

Los β -glucanos contribuyen principalmente a la estabilidad de las emulsiones por el incremento de la fase acuosa, por lo que no interactúan con la fase hidrofóbica ya que no son verdaderos surfactantes (Temelli, 1997).

Un peso molecular alto de β -glucanos (110×10^3 Da) estabiliza las emulsiones aceite/agua incrementando la viscosidad de la fase continua, mientras que el bajo peso molecular de β -glucanos (40×10^3 Da), influye en la estabilidad de la emulsión a través de redes formadas en la fase continua (Lazaridou y Biliaderis, 2007).

Las proteínas y polisacáridos están presentes en diversas emulsiones en forma de alimento. La presencia de polisacáridos en emulsiones de proteína estables tiene un efecto que varíe en sus propiedades de estabilidad y reológicas (Ghoush *et al.*, 2007). Kontogiorgos *et al.*, (2004) demostraron que los β -glucanos se pueden utilizar como estabilizadores para aderezos.

Durante la formación de una emulsión, las gotas de aceite se dispersan dentro de la fase continua lo que ocasiona la floculación debido a fuerzas de atracción. Las proteínas mejoran las propiedades de la emulsión formando una barrera estérica alrededor de las gotas de aceite (Ghoush, *et al.*, 2007).

2.3.1.3 Capacidad de retención de agua

Tradicionalmente los tipos de fibra se han venido agrupando en función de su mayor o menor capacidad para retener agua, ya que esta propiedad determina en gran medida las propiedades fisicoquímicas de los compuestos no digestibles y sus efectos fisiológicos en el tracto gastrointestinal. La solubilidad en agua condiciona un determinado comportamiento fisiológico porque el agua, por un lado vehiculiza y facilita la acción de las enzimas, ya sean digestivas o de origen bacteriano y, por otro lado, aumenta la viscosidad del medio, reteniendo componentes alimentarios (glucosa, grasa, minerales, etc), alentando o dificultando su absorción a través de la mucosa intestinal y/o dificultando el contacto de determinadas sustancias nocivas con el epitelio intestinal.

El comportamiento de los distintos tipos de fibras en relación al agua es muy diverso y depende de muchos factores, destacando como más importante los radicales hidroxilos presentes en la molécula, la estructura de la cadena de los polímeros según sea lineal o ramificada, el tipo de enlaces entre las cadenas poliméricas y la presencia de grupos ácidos.

La retención de agua por la fibra dietética va a condicionar un gran número de efectos fisiológicos, lo que justifica el énfasis de la clasificación de la fibra en soluble e insoluble (Mataix y Goñi 2009).

2.3.2 Beneficios para la salud de los β -glucanos

Los β -glucanos han sido evaluados con interés debido a sus diversos beneficios, incluyendo efectos moduladores inmunes, propiedades anticarcinógenas (Young *et al.*, 2006), disminución de lípidos (Keagy *et al.*, 2001), así como por su habilidad para reducir los niveles de azúcar en sangre y peso (Young *et al.*, 2006), además de que se ha mostrado que una dieta alta en β -glucanos promueve un llenado gástrico lento.

Estos efectos están asociados con un incremento en la excreción de ácidos biliares, incremento en el catabolismo del colesterol, lo que reduce la absorción de colesterol y grasa (Talati *et al.*, 2009). En cuanto a su peso molecular se ha reportado que para que los β -glucanos sean efectivos, el peso molecular debe ser de por lo menos 1,200,000 Da (Young *et al.*, 2006).

Las aparentes discrepancias en la estimaciones del peso molecular en β -glucanos de cereales, se deben a factores tales como la variedad del grano y el medio ambiente (crecimiento), así como a las diferencias en los métodos utilizados para extracción (solvente y la temperatura afectan la solubilización) y la purificación, fenómenos de agregación (dependientes sobre las características estructurales y la calidad del solvente) y eventos de despolimerización (por β -glucanasas endógenas o microbianas), que se producen durante la etapa de extracción. Además, los pesos moleculares reportados dependen de los métodos analíticos utilizados para la determinación del tamaño molecular (Lazaridou y Biliaderis, 2007).

Young *et al.*, (2006) observaron una correlación inversa entre el consumo de fibra con el peso y el índice de masa corporal, ya que la ingesta de energía aumenta cuando se disminuye el consumo de fibra en la dieta. Por otro lado Chen y Raymond (2008), demostraron que los β -glucanos disminuyen el peso corporal debido a su capacidad de saciedad, además de que son efectivos en la disminución de glucosa en sangre, dislipidemias e hipertensión lo que posiblemente podría ayudar a un llenado estomacal lento y esto traería consigo que la glucosa ingerida, a través de la dieta, sea absorbida gradualmente.

El consumo de alimentos que contienen cebada ricos en β -glucanos estimula un transporte reverso del colesterol (Lifschitz *et al.*, 2002). Se ha demostrado que los β -glucanos disminuyen colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDL) y aumentan las lipoproteínas de alta densidad (HDL) para aliviar posibles dislipidemias y reducir enfermedades cardiovasculares. El uso combinado de β -glucanos con otras fibras,

las cuales disminuyen triglicéridos como la fibra del maíz α -ciclodextrina, puede producir un mejor tratamiento (Chen y Raymond *et al.*, 2008). Algunos de los compuestos con propiedades hipocolesterolémicas son las pectinas, galactomananos (gomas) y concentrados de cítricos (Molina y Martin, 2007). Los mecanismos de acción son: aumento del contenido gastrointestinal, que interfiere en la formación de micelas y absorción de lípidos, aumento y excreción de esteroides y ácidos biliares e inhibición de síntesis de colesterol, debido a la absorción del ácido propiónico formado en la fermentación (Molina y Martin, 2007), así como la producción de ácidos grasos volátiles en el intestino delgado, los cuales son reabsorbidos y actúan como inhibidores de la 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) reductasa en el hígado (Finocchiaro *et al.*, 2005).

Los β -glucanos de cereales disminuyen la absorción y reabsorción de colesterol, ácidos biliares y sus metabolitos por el incremento de la viscosidad del tracto gastrointestinal, también retrasan el llenado gástrico y la absorción intestinal de nutrientes, tales como hidratos de carbono digeribles, mediante este mecanismo reducen la hiperglicemia postprandial y la secreción de insulina. Un peso molecular elevado de β -glucanos interviene en un incremento en la excreción de ácidos biliares: las micelas o los ácidos biliares pueden encapsularse en una matriz altamente viscosa de β -glucanos, y después ser excretados en el intestino delgado para reducir la formación de micelas en este y/o disminuir la reabsorción de ácidos biliares en el intestino grueso (Lazaridou y Biliaderis, 2007).

Otros factores que pudieran ser importantes, tales como la fermentación de β -glucanos en el colon, resultan en la producción de AGCC lo que impide la biosíntesis del colesterol (Chen y Raymond *et al.*, 2008; Ames *et al.*, 2006). Los β -glucanos proporcionan un sustrato para la proliferación de microbiota normal y se convierten en AGCC, en especial en butirato, ya que es un nutriente esencial de los colonocitos, afectando de manera positiva la microbiota intestinal y también el pH del intestino. La

mucosa colónica absorbe éstos ácidos grasos para utilizarlos en la producción de energía (Biesalski y Grimm, 2009).

El papel de los β -glucanos en la reducción de riesgo de cáncer de colon no ha sido estudiado a detalle. Una ingesta alta en fibra se asocia con un menor riesgo de desarrollar cáncer colorrectal. Una de las razones por la cual se desarrolla el cáncer de colon y recto es que a partir de las excesivas cantidades de ácidos biliares en el intestino, se forman algunas sustancias cancerígenas (Molina y Martin, 2007; Fastnaught, 2001).

La fibra tiene un efecto benéfico importante, pues reduce la secreción de ácidos biliares e incrementa la excreción en las heces. Por otra parte, la alta capacidad de retención de agua puede diluir la concentración de agentes cancerígenos y también absorberlos en su superficie. El ácido butírico formado por la fermentación puede inhibir la formación de tumores, que se ve potenciada por los bajos pH que resultan de la fermentación de la fibra en el colon (Molina y Martin, 2007).

2.3.3 Recomendaciones de ingesta de β -glucanos

Los requerimientos de β -glucanos reportados en varios estudios va de 3 a 10 g/día (dosis media 7 g/día) (Chen y Raymond, 2008; Shimizo *et al.*, 2007), los cuales fueron administrados en diferentes formas, incluyendo cebada perlada, harina de salvado de cebada, extractos de aceite en cápsulas, concentrados de cebada y cebada contenida en bebidas (Talati *et al.*, 2009), y en donde el grupo control redujo significativamente los niveles de colesterol-LDL y colesterol total. En estudios realizados por Behall *et al.*, (2004), reportaron que el consumo de cebada reducía factores de riesgo de enfermedades cardiovasculares en comparación con otras fuentes de fibra, añadiendo de 3 a 6 g de β -glucanos, observando que el colesterol total disminuyó significativamente.

2.4 OBTENCIÓN DE AISLADOS DE β -GLUCANOS DE CEBADA

Se han usado diferentes métodos de extracción en β -glucanos de avena y cebada, esto para maximizar el rendimiento y viscosidad de los extractos. El contenido total de β -glucanos varía dependiendo tanto de factores genéticos como ambientales. Los β -glucanos tanto solubles como insolubles están presentes en cereales y su solubilidad está afectada por el tamaño de partícula, la actividad de la β -glucanasa de la harina, temperatura, pH y la fuerza iónica de los medios de extracción (Aman y Graham, 1987).

La extracción de β -glucanos depende de varios factores (variedad de grano, pH y fuerza iónica del solvente, temperatura, duración de la extracción), pretratamientos (calentamiento y secado), y la presencia de enzimas propias del grano o generadas por microorganismos, también como el método de molienda y el tamaño de partícula (Lazaridou *et al.*, 2007).

En general, las extracciones a altas temperaturas dan como resultado los valores más altos en cuanto a fibra soluble, y extracciones en medios alcalinos dan valores más bajos. Con un incremento en la temperatura de extracción y usando solventes alcalinos en vez de agua, el porcentaje de extracción de β -glucanos incrementa. La cantidad de β -glucanos de avena y cebada que se extraen con agua caliente (80 a 100 °C), varía del 50 -70% (Lazaridou *et al.*, 2007).

Wood *et al.*, (1991), encontraron que ~45% de β -glucanos de cebada y ~70 de β -glucanos de avena fueron extraídos con carbonato pH 10/60 °C, mientras que con éste amortiguador se podría dar una extracción completa de β -glucanos tanto de avena como de cebada a 80 °C.

Woodward *et al.*, (1998), encontraron que el β -glucano extraído de harina de cebada a 40 °C tiene bloques adyacentes de tres o más uniones (1 \rightarrow 4) y menos uniones (1

→ 3) que aquellos que se extrajeron a 65 °C. Sin embargo, estas fracciones difieren en los niveles de proteína, y una posible explicación para β -glucanos menos extraíbles podría ser su unión en las paredes celulares con otros componentes.

La obtención de extractos de β -glucanos de cebada se ha realizado mediante la combinación de solventes, pH, temperatura y enzimas. La mayoría de las veces los extractos de β -glucanos son precipitados con etanol (Fastnaught, 2001).

3. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

En México la producción de cebada es utilizada principalmente en elaboración de cerveza y como forraje. Se ha comprobado en estudios recientes, en diferentes países, que los β -glucanos de cebada tienen un efecto benéfico para la salud, debido a que éstos son considerados como fibra dietética. En México no hay estudios con variedades mexicanas por lo que es de gran importancia realizar estudios sobre condiciones de extracción de β -glucanos y como se afectan sus propiedades funcionales.

Las condiciones de extracción reportadas hasta el momento por Burkus y Temelli (1998) fueron a pH 7, 8, 9 y 10 y temperaturas de 40, 45, 50 y 55 °C, utilizando una variedad de cebada de Canadá, y en las cuales se observó que a pH 7 y 8/55 °C obtuvieron mayor recuperación de β -glucanos, y mejores resultados en cuanto a sus propiedades funcionales. Por otro lado, Symons y Brennan (2004) utilizaron diferentes tratamientos, siguiendo la metodología de Temelli (1997), pero a una sola condición (pH 7/55 °C) obteniendo en ésta sus mejores resultados. Por lo tanto en ambos estudios se puede observar que tanto el pH como la temperatura afectan su funcionalidad. Esto da como evidencia la falta de conocimiento sobre las variedades mexicanas para poder ser tomadas en cuenta como variedades de importancia comercial en alimentos para humanos.

Algunas de las razones de inconsistencias en estudios de cebada se pueden explicar en las diferencias en la variedad del grano, las dosis de β -glucanos, el peso molecular, composición de los alimentos y el proceso de preparación de los alimentos. Cabe mencionar que estudiar las propiedades funcionales con variedades de cebada mexicanas, especialmente con la variedad Gabyota Libres de Puebla, tendría un gran potencial, porque se ha visto que tiene mayor contenido de β -glucanos.

4. JUSTIFICACIÓN

Hay 2 razones principales por las cuales se realizan estudios de consumo de cebada y β -glucanos de cebada: la primera se refiere a la elaboración de alimentos y a la industria agropecuaria, y la segunda se refiere al efecto en la salud del consumidor. Recientemente, la harina de cebada y los productos de grano entero han sido estudiados en países como España, Estados Unidos, Canadá, Australia y el Reino Unido, incrementando la diversidad y disponibilidad de alimentos a base de cebada, mejorando la utilización potencial de este grano

La realización de éste estudio, en una variedad de cebada mexicana, permitirá determinar condiciones de extracción y su efecto sobre algunas propiedades funcionales (CRA y CE), de importancia tanto tecnológicas como fisiológicas, lo cual generará las bases para proponer nuevos estudios que sustenten su uso en la industria de alimentos y farmacéutica, lo cual repercutirá en la producción de la cebada y sus aplicaciones.

Los β -glucanos de cebada y la cebada misma tienen potencial para ser utilizada por la industria alimentaria, sin embargo aún falta información acerca de la funcionalidad y comportamiento de los β -glucanos en los sistemas de alimentos. Los resultados obtenidos podrían ser muy beneficiosos para la salud, en especial para la población mexicana.

5. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto de la temperatura y pH de extracción de β -glucanos de harina y sémola de cebada y evaluar su capacidad de emulsificación y retención de agua.

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Obtener extractos de β -glucano de harina y sémola de cebada de la variedad Gabyota Libres Puebla mediante combinaciones de pH (7, 8, 9 y 10) y temperatura (40, 50 y 55 °C) para determinar el porcentaje de pureza de los extractos de β -glucano.
2. Determinar por análisis químico proximal la composición de los diferentes extractos de β -glucanos obtenidos.
3. Evaluar la capacidad de emulsificación y capacidad de retención de agua de los extractos de β -glucanos obtenidos.

6. METODOLOGÍA

6.1 DESARROLLO METODOLÓGICO

La variedad de cebada utilizada en el estudio fue Gabyota Libres Puebla, cosecha 2008, proporcionadas por los productores de cebada de la región centro del país. La razón por la que se utilizó ésta variedad fue debido a resultados de estudios previos de Ortiz (2010), en donde se analizó el contenido de β -glucano de diferentes variedades de grano de cebada de la región centro del país, teniendo como resultado que Gabyota Libres Puebla fue la que obtuvo mayor porcentaje de ésta fibra, la cual se sometió primero a un proceso de molturación para obtener cada una de las fracciones (harina, sémola y salvado) por molienda seca.

Con la finalidad de determinar qué fracción era la más apta para la extracción, se evaluó el contenido de β -glucanos de cada una de ellas. Para ello cada fracción se sometió a condiciones de extracción pH 9/50 °C (éstas condiciones de pH y temperatura se fijaron en base a trabajos preliminares de Ortiz, 2010). Se cuantificó el porcentaje de β -glucano tanto al precipitado como al sobrenadante por el método de McCleary (2006) (paquete enzimático Megazyme AOAC 995.16).

En base a los resultados previos se tomó la decisión de utilizar únicamente sémola y harina para la extracción de β -glucanos. Se utilizó una relación 2:1 de sémola-harina, la cual se sometió a diferentes tratamientos resultado de la combinación de pH (7, 8, 9, 10) y temperatura (40, 50 y 55 °C) (Temelli, 1997), se cuantificó el porcentaje de β -glucanos a los diferentes extractos obtenidos. A los extractos de β -glucanos (E β G) obtenidos de los diferentes tratamientos se les realizó un análisis químico proximal y se determinaron de las propiedades funcionales de los extractos (capacidad de emulsificación, capacidad de retención de agua y gelificación).

El diseño metodológico se llevó a cabo en 4 fases: 1) molienda seca, 2) extracción de β -glucanos y cuantificación de β -glucanos, 3) análisis químico proximal y 4) caracterización de las propiedades funcionales (capacidad de emulsificación (CE) y capacidad de retención de agua (CRA), como se puede observar en la figura 5.

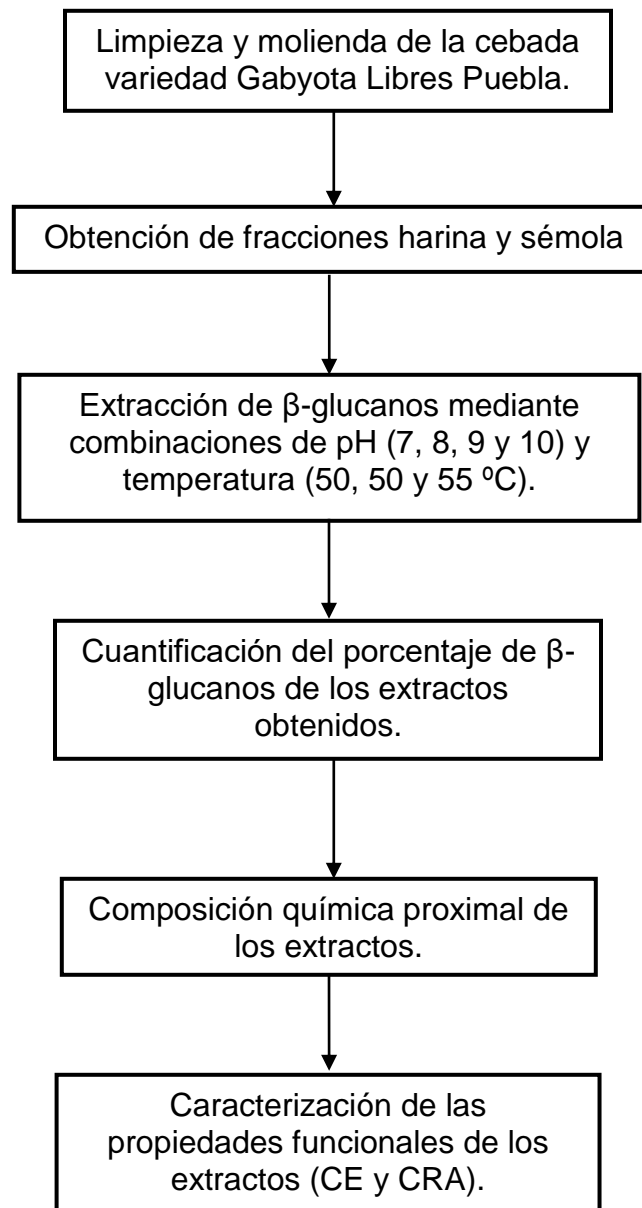


Figura 5. Esquema del diseño metodológico.

6.2 SELECCIÓN DEL GRANO

Para la limpieza del grano se pesó en cantidades de 1 kg (se limpió un total de 11 kg de grano). Se tomó una porción y se depositó en un agitador Baldor (Electric Industrial Motor, EU) durante 5 min, el cual consiste en tamices con poros de diferentes diámetros que van de mayor a menor diámetro (3.35, 2.36, 1.40 y 1.00 mm). En los dos primeros tamices se retiene el grano de cebada y algunas impurezas que no se logran eliminar durante el proceso de agitación, y en los 3 tamices restantes se quedan impurezas como insectos muertos, tierra, paja y piedras. Posteriormente se realizó una selección manual para eliminar los restos de impurezas.

La limpieza del grano se llevó a cabo bajo la norma NMX-FF-043-SCFI-2003 (anexo 1), en dicho documento se establecen los parámetros y especificaciones que debe cumplir la cebada maltera para su comercialización.

6.3 ACONDICIONAMIENTO DEL GRANO Y MOLIENDA

El fin con el que se acondicionó el grano fue para que se llevara a cabo una adecuada molienda y llevar el grano a un 16% (Ortiz, 2010).

Para la determinación de humedad del grano se realizó por el método de la AOAC 925.10 (1999), el cual consistió en pesar 3 g de muestra por triplicado en cápsulas de aluminio previamente taradas y sometándose a sequedad en estufa (Modelo AA2035, Scorpion Scientific, EU) a $105\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ por 4 hrs, posteriormente se dejó enfriar y se pesó. El cálculo se realizó por diferencia de peso con respecto al peso inicial (Ec. 1).

$$\% H = \frac{P_1 - P_2}{P_1} \times 100 \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde:

% H = % de humedad.

P_1 = peso inicial de la muestra (g).

P_2 = peso final de la muestra seca (g).

Una vez que se obtuvo la cebada limpia y conociendo su porcentaje de humedad, se acondicionó para poder realizar la molienda. Por ejemplo, para el acondicionamiento de un 1 kg de muestra con un 10 % de humedad, se le agregó 71.4 mL de agua destilada/kg de grano. Con el objetivo de llegar a una humedad de 16 %, se hizo el cálculo para conocer la cantidad de agua que se le tenía que adicionar (Ec. 2) y se agitó uniformemente, se dejó reposar por 24 hrs. Cabe mencionar que dependiendo del porcentaje de humedad del grano, se va a calcular la cantidad de agua que va a necesitar.

$$X = \frac{H_f \cdot M_s}{D_h} - H_i \quad (\text{Ec 2})$$

Donde:

X = cantidad de agua a adicionar (mL).

H_f = humedad que se desea alcanzar (%)

M_s = peso de la muestra seca (g).

D_h = diferencia de humedad (%) (H_f-H_i)

H_i = humedad inicial (%)

Posteriormente se procedió a la molienda seca en un molino de laboratorio (Modelo DC1, CHOPIN, Francia), obteniendo harina, sémola y salvado, las fracciones fueron almacenadas por separado en bolsas con cierre hermético.

6.4 CUANTIFICACIÓN DE β -GLUCANOS EN HARINA, SÉMOLA, SALVADO, PRECIPITADO Y SOBRENADANTE

Para las fracciones sólidas (harina, sémola, salvado y precipitado) se cuantificó el contenido de β -glucanos mediante un paquete enzimático comercial Megazyme por el método de McCleary (2006), que será descrito mas adelante con más detalle.

Para la determinación de β -glucanos en líquidos, el proveedor recomienda utilizar la siguiente técnica: en el sobrenadante se agregaron 5 mL de éste a tubos de polipropileno para centrífuga (15 mL), añadiéndole 2.5 g de cristales de sulfato de amonio, los cuales se disolvieron por inversión. Los tubos se quedaron reposando por 20 h a 4 °C. Posteriormente se centrifugaron (centrífuga Modelo V6500, Hamilton Bell Co. Inc. N. Y.) a 1,000 g por 10 min. Se eliminó el sobrenadante y el pellet se resuspendió agregando 1 mL de etanol (50 %) agitando con un vórtex. Después se le agregaron 10 mL más de este mismo etanol agitando por inversión. Se centrifugó a 1,000 g por 5 min y se eliminó el sobrenadante. Este lavado con etanol se repitió una segunda vez y se volvió a eliminar el sobrenadante. El pellet se resuspendió en amortiguador de fosfato de sodio (20 mM, pH 6.5) y el volumen se ajustó a 4.8 mL (por peso). Se añadieron 2 mL de liquenasa, se incubó a 40 °C por 5 min, se centrifugó a 1,000 g por 10 min. Se añadió una alícuota de 0.1 mL de amortiguador acetato de sodio (50 mM, pH 4.0) a uno de éstos (el blanco), y a los otros 2 tubos (la reacción) se les añadió β -glucosidasa (0.1 mL, 0.2 U) y se incubaron los tubos a 50 °C por 10 min. Finalmente se añadió 3 mL del reactivo GOPOD (glucosa oxidasa peroxidasa) a cada uno de los tubos y se incubaron por 20 min a 50 °C. Por último se midió la absorbancia a 510 nm en un espectrofotómetro (Shimadzu UV 1601) y se realizaron los cálculos mediante la siguiente ecuación:

(Ec. 3)

$$\% \beta\text{-glucanos (mg/L)} = \Delta A \times F \times 9 \quad \text{(Ec. 3)}$$

Donde:

ΔA = Absorbencia de la β -glucosidasa menos la absorbencia del blanco de reacción.

F = Factor de conversión de los valores de absorbencia a μg de glucosa.

9 = Factor de conversión (para muestras líquidas).

6.5 OBTENCIÓN DE EXTRACTOS DE β -GLUCANOS (E β G)

La extracción de β -glucanos se llevó a cabo mediante el método de Temelli (1997) con algunas modificaciones, el cual consistió en disolver harina y sémola en agua destilada en una relación 1:2:30 respectivamente, ajustando a diferentes valores de pH (7, 8, 9 y 10) con Na_2CO_3 (20% p/v), posteriormente se sometió a una incubación con a diferentes temperaturas (40, 50 y 55 °C) en un baño de agitación horizontal (Modelo LSB-015S, Daihan Labtech CO., LTD Korea) por 40 min a 120 rpm. La mezcla se centrifugó (centrífuga modelo Allegra 25R, Beckman Coulter, Inc. Germany) para remover los sólidos (fibra insoluble) (15,000 x g, 15 min), al sobrenadante se le ajustó el pH a 4.5 con HCl 2 M y se centrifugó otra vez (15,000 x g, 40 min), esto con el fin de separar las proteínas precipitadas. Del sobrenadante se obtuvieron los β -glucanos por precipitación con etanol (99.9%) relación 1:1. El precipitado se recuperó por centrifugación (5000 x g, 10 min) y se dejó reposar a 4 °C toda la noche. Las muestras se homogenizaron hasta obtener una dispersión uniforme en etanol. Finalmente las muestras se filtraron al vacío en crisoles tipo Gooch (porosidad F de 4-5.5 μm , cap. 50 mL) y matraces kitazato (2 litros de capacidad), se lavaron con éter de petróleo (100 mL) para eliminar el exceso de grasa, las muestras se filtraron de nuevo y se secaron en el horno (Modelo AA2035, Scorpion Scientific, EU) a 45°C toda la noche. Una vez secos los E β G, se trituraron en un mortero hasta pulverizarlas. Después los E β G se almacenaron en tubos para centrífuga para evitar que estuvieran en contacto con la humedad.

6.6 CUANTIFICACIÓN DE β -GLUCANOS

Se realizó la cuantificación de β -glucanos mediante un paquete enzimático comercial Megazyme por el método de McCleary (2006), en el cual tiene como fundamento la hidrólisis de β -glucanos en β -gluco-oligosacáridos con liquenasa y después se completó la hidrólisis a glucosa con β -glucosidasa, la glucosa resultante se cuantifica mezclando con glucosa/oxidasa-peroxidasa, en el cual se obtiene una coloración rosada. (fig 6).

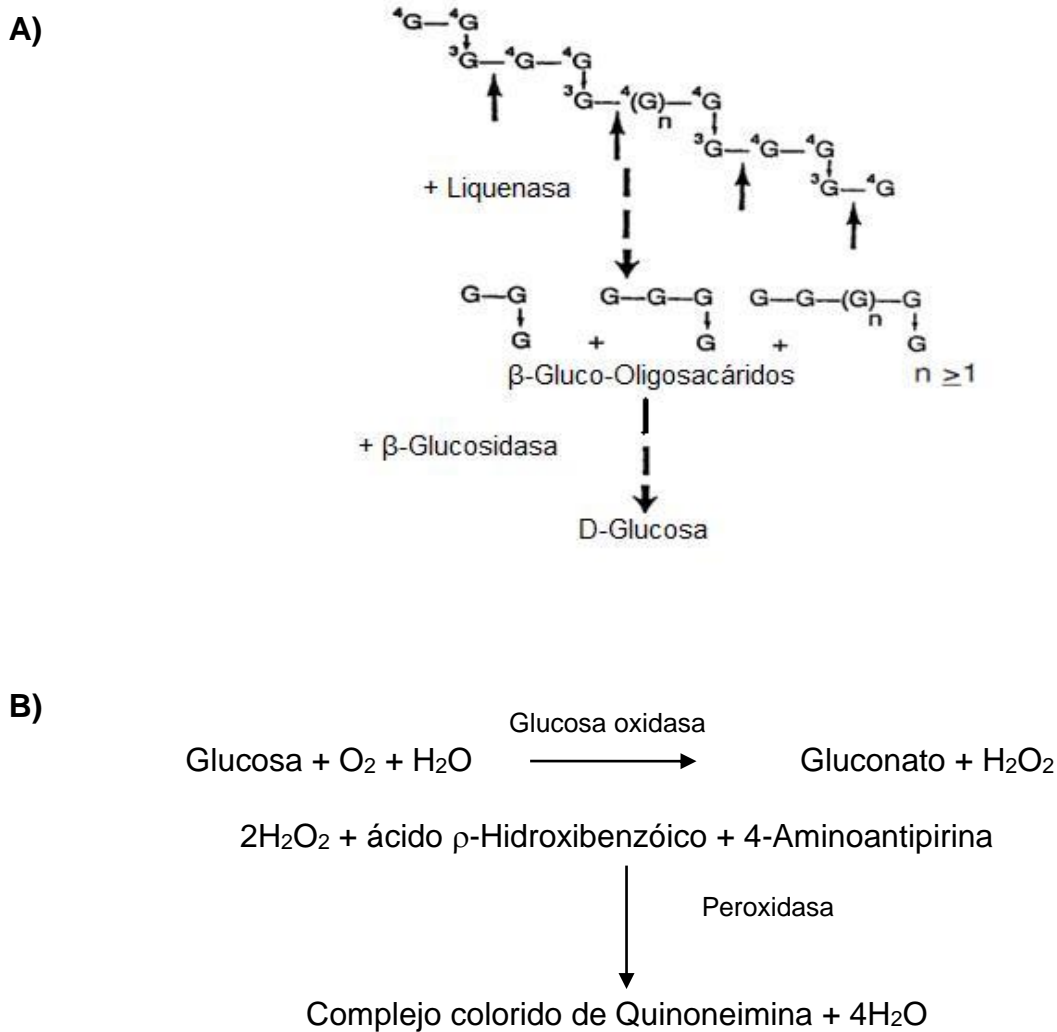


Figura 6. Reacciones para la cuantificación de β -glucanos: A) Reacción enzimática con liquenasa y β -glucosidasa. B) Reacción enzimática con glucosa oxidasa y peroxidasa (AOAC 995.16).

Este método consistió en pesar 10 mg de los extractos de β -glucano, con un contenido de humedad conocido, en tubos de polipropileno para centrifuga (15 mL). Se aseguró que cada muestra bajara al fondo de cada tubo. Las muestras se humedecieron con una alícuota de 0.2 mL de etanol (50% v/v) para facilitar la dispersión. Se añadieron 4 mL de amortiguador fosfato de sodio (20 mM, pH 6.5) y se agitaron en un mezclador vortex (Modelo G-560, Scientific Industries, Inc N. Y.). Inmediatamente los tubos se incubaron a ebullición durante 60 seg. Se agitaron en el vortex y se volvieron a incubar a ebullición por 2 min, posteriormente se dejó en un baño de agitación horizontal y se dejaron reposar a 50 °C por 5 min. A continuación se añadió liquenasa (0.2 mL, 10 U), se agitó el contenido del tubo y se incubaron a 50 °C en el lapso de 1 h, agitando de 3 a 4 veces. Posteriormente se añadió amortiguador acetato de sodio (5.0 mL, 200 mM, pH 4.0) y se mezclaron los tubos con agitación vigorosa. En seguida los tubos se equilibraron a temperatura ambiente durante 5 min y se centrifugaron (1000 x g 10 min) (Modelo V6500, Hamilton Bell Co. Inc. N. Y.). Cuidadosamente y con precisión se transfirieron alícuotas de 0.1 mL al fondo de 3 tubos de ensayo. Se añadió una alícuota de 0.1 mL de amortiguador acetato de sodio (50 mM, pH 4.0) a uno de éstos (el blanco), y a los otros 2 tubos (la reacción) se les añadió β -glucosidasa (0.1 mL, 0.2 U) y se incubaron los tubos a 50 °C por 10 min. Finalmente se añadió 3 mL del reactivo GOPOD (glucosa oxidasa peroxidasa) a cada uno de los tubos y se incubaron por 20 min a 50 °C. Por último se midió la absorbancia a 510 nm en un espectrofotómetro (Shimadzu UV 1601) y se realizaron los cálculos mediante la siguiente ecuación (Ec 4):

$$\% \beta\text{-glucanos} = \Delta A \times F/W \times 8.46 \quad (\text{Ec. 4})$$

Donde:

ΔA = Absorbencia de la β -glucosidasa menos la absorbencia del blanco de reacción.

F = Factor de conversión de los valores de absorbancia a μg de glucosa.

W = Cálculo del peso seco de la muestra analizado en mg.

8.46 = Factor de conversión (para muestras sólidas).

.

6.7 ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL DE LOS E β G

A los extractos que se obtuvieron de las diferentes combinaciones, se les determinó un análisis químico proximal para analizar su composición (proteínas, humedad, cenizas, grasas y almidón).

6.7.1 Determinación de proteínas

La determinación de nitrógeno, en compuestos orgánicos por el método de Dumas, se basa en la reducción de los óxidos de nitrógeno formados en la combustión de las muestras, realizando la medición volumétricamente del gas nitrógeno producto de dicha reducción. Esto se logra cuando la muestra pesada de sustancia orgánica se hace pasar por un tren de combustión que consta de un tubo que contiene óxido de cobre y calentado a una temperatura que va desde 600 °C a 800 °C. Posteriormente, el agua formada se absorbe en otro tubo que contiene agente desecante, para finalmente, diluir el dióxido de carbono en el último tubo cargado de base fuerte. Al pasar la muestra por dicho tren de combustión el nitrógeno combinado se reduce liberando nitrógeno molecular, después la muestra pasa a través de una malla de cobre. En ésta se reducen los óxidos de cobre que pudiesen haberse formado a nitrógeno elemental, el nitrógeno elemental se recoge y se mide el volumen obtenido (Cruz, 2007).

Antes de comenzar el análisis el horno del equipo (Determinador de N/proteína LECO FP-528, USA, 2000) se calentó a una temperatura de 850 °C y se dejó que la temperatura se estabilizara por un tiempo de 2 hrs, al término de ese tiempo, se revisó que todos los parámetros requeridos para el funcionamiento del equipo estuvieran dentro de su rango. Después se inspeccionó que las presiones de los gases estuvieran dentro de los valores correctos y se procedió a realizar una prueba de fugas. El siguiente paso fue calibrar el equipo. Se utilizaron 2 patrones, alfalfa

(LECO) con un contenido de nitrógeno de $3.88 \pm 0.05\%$ y EDTA (LECO) con un contenido de nitrógeno de $4.57 \pm 0.05\%$.

Se pesaron muestras (aproximadamente 0.1 g) en cápsulas tin foil®, se corrieron las muestras, se inspeccionó el transcurso de éstas y en cada intervalo del análisis se revisaron los parámetros predeterminados en el método.

Los resultados obtenidos se exportaron directamente al programa a una hoja de cálculo donde se realizaron los cálculos. De los métodos empleados se obtuvieron resultados de % de nitrógeno total en base seca. El factor de conversión que se utilizó fue de 6.25 para obtener el % de proteína.

6.7.2 Determinación de humedad

Para valorar el contenido de humedad se realizó por el método de la AOAC 925.10 (1999). Se pesó 0.5 g de cada extracto por triplicado en cápsulas de aluminio previamente taradas y sometióse a sequedad en una estufa (Modelo AS2035, Scorpion Scientific, E.U.) a $105 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3 \text{ }^{\circ}\text{C}$ por 3 h. A continuación las muestras se dejaron enfriar en desecador y se pesaron. El cálculo se realizó por diferencia de peso con respecto al peso inicial (Ec. 1).

6.7.3 Determinación de cenizas

La determinación de cenizas se llevó a cabo por el método de la AOAC (923.03, 1990), pesando 0.46 g de extractos de β -glucanos por triplicado en cápsulas de cerámica tarados, pesados y secados previamente en una estufa (Modelo AS2035, Scorpion Scientific, E.U.) a $105 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3 \text{ }^{\circ}\text{C}$ por 1 h. Posteriormente las muestras se carbonizaron a llama directa hasta que no hubiera desprendimiento de humo. A continuación se incineraron en mufla (Modelo FD1535M, Barnstead/Thermolyne,

USA) durante 5 hrs a 525 °C. Pasado este tiempo se dejaron enfriar las muestras y se pesaron las cenizas. El porcentaje de cenizas se reportó como la relación de peso con respecto al peso inicial (Ec 5).

$$\%C = \frac{P_F}{P_I} \times 100 \quad (\text{Ec. 5})$$

Donde:

% C = % de cenizas.

P_I = Peso inicial de la muestra.

P_F = Peso final de la muestra (cenizas).

6.7.4 Determinación de grasas

Para la determinación de grasas, se utilizó el equipo LECO TFE 2000, el cual utiliza CO₂ supercrítico con presiones de 9000 psi. La no utilización de solventes orgánicos es una de las mayores ventajas, sin embargo, las altas presiones que se requieren pueden provocar pequeños fallos en el sistema que no son alarmantes siempre que se atiendan adecuadamente.

Una sustancia es considerada fluido supercrítico cuando ambas temperatura y presión igualan o exceden aquellas de su punto crítico. Para el CO₂, la temperatura y presión críticos es de 31 °C y 1072 psi (73.91 bars) respectivamente.

La extracción de grasas se determinó tarando los dedales (tubos de acero inoxidable), después se añadieron ~0.5 gr de muestra y se volvió a pesar el dedal. A parte se pesaron 3 viales (donde se colecta la grasa extraída) registrando su peso. Una vez de haber realizado lo anterior y haber probado la fuga de gases automáticamente el equipo asegura los dedales y programando éste empieza la

determinación de grasas. Los dedales son calentados con cartuchos calientes a una temperatura de 100 °C. Esta temperatura es crítica para el proceso de extracción.

Para determinar el contenido de grasa de las muestras se pesaron los viales recolectores y por diferencia de peso si hicieron los cálculos.

6.7.5 Determinación de almidón

Este método se llevó a cabo con el paquete enzimático por el método de Amiloglucosidasa/ α -amilasa (Megazyme International, AOAC 996.11, Ireland, 2008). Se pesaron 100 mg de muestra a un tubo de ensayo, se tapó y se aseguró que la muestra bajara al fondo de éste. En seguida se añadieron 0.2 mL de etanol (80% v/v) para facilitar la dispersión y se agitó en un mezclador vortex (Modelo G-560, Scientific Industries, Inc N. Y.). Inmediatamente se añadieron 3 mL de α -amilasa termoestable. Los tubos se incubaron a ebullición por 6 min (los tubos se agitaron después de 2, 4 y 6 min). A continuación se colocaron los tubos en una baño de agitación horizontal (Modelo LSB-015S, Daihan Labtech CO., LTD Korea) a 50 °C, se añadió amiloglucosidasa (0.1 mL, 330 U en almidón) y los tubos se agitaron en el vortex y se incubaron a 50 °C por 30 min. El contenido de los tubos se transfirió a matraces aforados de 100 mL y se aforó con agua destilada. Se mezcló suavemente y se centrifugó a 3,000 rpm por 10 min (Modelo V6500, Hamilton Bell Co. Inc. N. Y). Posteriormente se transfirieron alícuotas por triplicado (0.1 mL) al fondo de 3 tubos. A un tubo (el blanco) consistió en 0.1 mL de agua mas 3 mL del reactiv **METODOLOGÍA** demás tubos (la reacción) se añadieron 0.1 mL de la muestra mas 3.0 mL del reactivo GOPOD y se incubaron a 50 °C por 20 min. Finalmente se levó la **METODOLOGÍA** absorbancia de cada muestra a 510 nm en un espectrofotómetro (Σηριασζυ UV 1601).

Los datos fueron analizados en el software Mega-Calc™ Total Starch Determination (sólidos).

6.8 PROPIEDADES FUNCIONALES DE LOS E β G

De cada uno de los extractos obtenidos, se les determinó la capacidad de emulsificación y capacidad de retención de agua.

6.8.1 Capacidad de emulsificación

La capacidad de emulsificación se determinó por el método de Temelli (1997) se pesaron 300 mg de muestra de cada extracto por triplicado en tubos para centrifuga de 50 mL, se le adicionaron 5 mL de agua destilada, posteriormente se incubaron en un baño con temperatura controlada (Cole-Parmer G3203) a 35 °C por 20 min, pasado este tiempo se mezcló por 2 min utilizando un homogenizador a 11,500 rpm (Modelo WiseTis HG-15D) a temperatura ambiente (~21 °C) agregándole poco a poco 7.5 mL de aceite vegetal comestible (Aceite 1-2-3, La Corona S.A DE C.V). La muestra se pasó a tubos de 15 mL y se centrifugaron (Modelo SOL-BAT J-12, México) por 20 min a 3,500 rpm. La capacidad de la emulsión se reportó como el porcentaje del aceite emulsionado después de la centrifugación con respecto al volumen inicial (Ec. 6).

$$\% C_E = \frac{V_I - V_F}{V_I} \times 100 \quad (\text{Ec. 6})$$

Donde:

$\% C_E$ = % de la capacidad de la emulsión.

V_I = Volumen inicial del aceite antes de la emulsión (mL).

V_F = Volumen final del aceite después de la emulsión (mL).

6.8.2 Capacidad de retención de agua

La capacidad de retención de agua (CRA) se realizó por el método de Symons y Brennan (2004). Se pesaron 300 mg de muestra por duplicado en tubos de 15 mL. Se adicionaron 10 mL de agua destilada a cada tubo y se dejaron reposar a temperatura ambiente por 19 hrs. Después de la hidratación las muestras fueron centrifugadas a 3,000 rpm por 20 min (Modelo SOL-BAT J-12, México). El sobrenadante se decantó y se pesó para conocer la cantidad de agua que absorbió el extracto. Se pesaron 300 mg del pellet en capsulas de aluminio para llevarlas a sequedad en una estufa (Modelo AS2035, Scorpion Scientific, EU) a $105\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 2 hrs. La CRA se reportó como cantidad de agua retenida por el pellet por g de peso seco (Ec. 7).

$$CRA = \frac{A_r}{W_l} \quad (\text{Ec. 7})$$

Donde:

CRA = Capacidad de retención de agua (g/g).

W_l = Peso de la muestra seca (g).

A_r = Agua retenida con respecto al peso inicial (g).

6.8.3 Gelificación

La gelificación se llevó a cabo mediante el procedimiento descrito por Burkus y Temelli (1997) con algunas modificaciones, el cual consistió en la dispersión del extracto de β -glucano a diferentes concentraciones en agua destilada (3, 4 y 5% p/v). Posteriormente la gelificación se llevó a cabo por tratamiento térmico (30 min a ebullición) para una completa hidratación, y por ultimo un baño con agua fría ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 20 min). La evaluación del grado de gelificación se realizó por medio de pruebas de compresión utilizando un texturómetro universal (Modelo TA-XT2i, Texture Analyzer,

Stable Micro Systems, EU) el cual aplica una carga a una velocidad de compresión constante determinándose la carga y desplazamiento necesario para que ocurra el rompimiento del gel (5 kg, 5 mm/min respectivamente).

6.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las determinaciones se realizaron por triplicado para las extracciones, cuantificación de β -glucanos, composición química y propiedades funcionales, esto para determinar diferencias entre combinaciones de pH y temperatura de los extractos. Se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) y comparación de medias usando la prueba S-N-K con un nivel de significancia $p < 0.05$. Para este análisis se utilizó el programa estadístico SPSS versión 17.

.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La variedad Gabyota Libres Puebla, se sometió a molienda seca, se obtuvieron las fracciones por separado de harina, sémola y salvado, pero para cuestiones de este trabajo experimental solo se utilizó harina y sémola.

7.1 RENDIMIENTO DE LA MOLIENDA

Del total de grano que se sometió a molienda (11 kg), se observó que la fracción salvado fue la que obtuvo un mayor rendimiento (4.79 kg), le sigue la harina (2.64 kg) y siendo la sémola la que obtuvo menor rendimiento (2.43 kg) (tabla 4).

Tabla 4. Porcentaje de rendimiento de la harina, sémola y salvado.

FRACCIÓN	Kg	%±DS
HARINA	2.64	24.08±1.6
SÉMOLA	2.43	22.07±1.2
SALVADO	4.79	43.62±10.8
IMPUREZAS	1.12	10.23±10.7

La alta variabilidad en la desviación estándar de las impurezas, se debió a que un lote del grano fue obtenido de lo último que quedó en el costal, presentando mayor contenido de impurezas, y otros lotes del grano se obtuvieron de costales nuevos, presentando un mínimo contenido de impurezas.

7.2 EXTRACCIÓN Y PUREZA DE β -GLUCANOS

Como se mencionó anteriormente, se realizaron pruebas preliminares donde se determinó el porcentaje de β -glucanos a la harina, sémola, salvado; precipitados de harina, sémola y salvado, y sobrenadante de harina, sémola y salvado (en sus 2 etapas). En la tabla 5 se muestran los valores obtenidos por cada una de éstas etapas.

Tabla 5. Valores de β -glucanos por cada una de las diferentes etapas de extracción.

FRACCIÓN	Peso	% β -glucanos	mg β -glucanos totales**
Harina	2 g	3.025 \pm 0.15	60.512 \pm 3.00
Sémola	2 g	6.188 \pm 0.28	123.774 \pm 5.75
Salvado	2 g	4.653 \pm 0.10	93.060 \pm 2.10
Precipitado de Harina	1.84 g	1.44 \pm 0.03	26.502 \pm 0.61
Precipitado de Sémola	1.54 g	3.542 \pm 0.16	54.557 \pm 2.51
Precipitado de Salvado	1.75 g	3.907 \pm 0.17	68.388 \pm 3.14
Sobrenadante Harina 1	17.5 mL	0.252\pm0.001	*4.439\pm0.02
Sobrenadante Sémola 1	18.6 mL	0.271\pm0.006	*5.048\pm0.12
Sobrenadante Salvado 1	15 mL	0.213 \pm 0.006	*3.192 \pm 0.10
Sobrenadante Harina 2	17.5 mL	0.266\pm0.006	*4.668\pm0.12
Sobrenadante Sémola 2	18.56 mL	0.375\pm0.01	*6.974\pm0.31
Sobrenadante Salvado 2	14.98 mL	0.251 \pm 0.007	*3.758 \pm 0.11

* Las unidades reportadas para estos volúmenes son en mL.

** mg de β -glucanos totales en base al peso inicial de las fracciones (2 g).

Durante el proceso de determinación de β -glucanos en las diferentes etapas, se pudo observar que en el precipitado quedaba la fibra insoluble, obteniendo los valores mayores el salvado. Por otro lado, en el sobrenadante quedó la fibra soluble (en las 2 etapas), y por consecuencia en la harina y sémola se observa que tuvieron valores mayores, razón por la que se decidió utilizar estas dos fracciones.

7.3 EXTRACCIÓN Y PUREZA DE EXTRACTOS DE β -GLUCANOS

Una vez realizadas las extracciones con diferentes combinaciones de pH (7, 8, 9 y 10) y temperatura (40, 50 y 55 °C), se observó que a mayor temperatura, mayor porcentaje del extracto, pero con respecto al pH, al incrementar éste, también presentó mayor porcentaje del extracto a excepción de pH 10 (Figura 7), ya que a partir de pH 10 empezó a disminuir este porcentaje, por lo que las mejores combinaciones en el presente trabajo fue a pH 8 y 9/55 °C (3.29 y 3.17 g EBG/100 g H-S respectivamente), presentando una diferencia significativa con respecto a las demás combinaciones, siendo la combinación pH 7/55 °C la que obtuvo los valores más bajos (0.78 g EBG/100 g H-S) ($p > 0.05$).

Estudios reportados por Temelli (1997), observaron que el mayor rendimiento (5.54%) se alcanzó con un pH 8/55 °C; y que con el aumento de la temperatura obtuvo un incremento en el porcentaje de β -glucanos recuperados a pH 7 y 8. Con estos valores de pH a 55 °C, el 86.5% del β -glucano se recuperó de la harina de cebada.

Por otro lado, los valores obtenidos en pH 7/55 °C fueron similares al estudio realizado por Symons y Brennan (2004), quienes evaluaron el efecto del tratamiento sobre el rendimiento de fracciones de β -glucanos de cebada, encontrando que la recuperación de β -glucanos fue en fracciones purificadas (59%). La extracción con eficacia más baja se alcanzó con tratamiento de agua (pH 7/55 °C) (47%). La baja obtención del extracto a pH 7 se puede deber a la división de β -glucanos por enzimas β -glucanasas, la menor eficacia de extracción puede ser atribuida a degradación térmica y/o a la contaminación de la harina o despolimerización ácido/alcalino que resulta en la pérdida de peso molecular, reduciendo las propiedades de β -glucanos (Burkus y Temelli, 1998; Symons y Brennan, 2004).

Se ha reportado que temperaturas por arriba de 100 °C, con o sin digestión enzimática, se solubiliza hasta un 86% de β -glucano, produciendo concentrados con 33.1-89.1 % de β -glucano (Fastnaught, 2001).

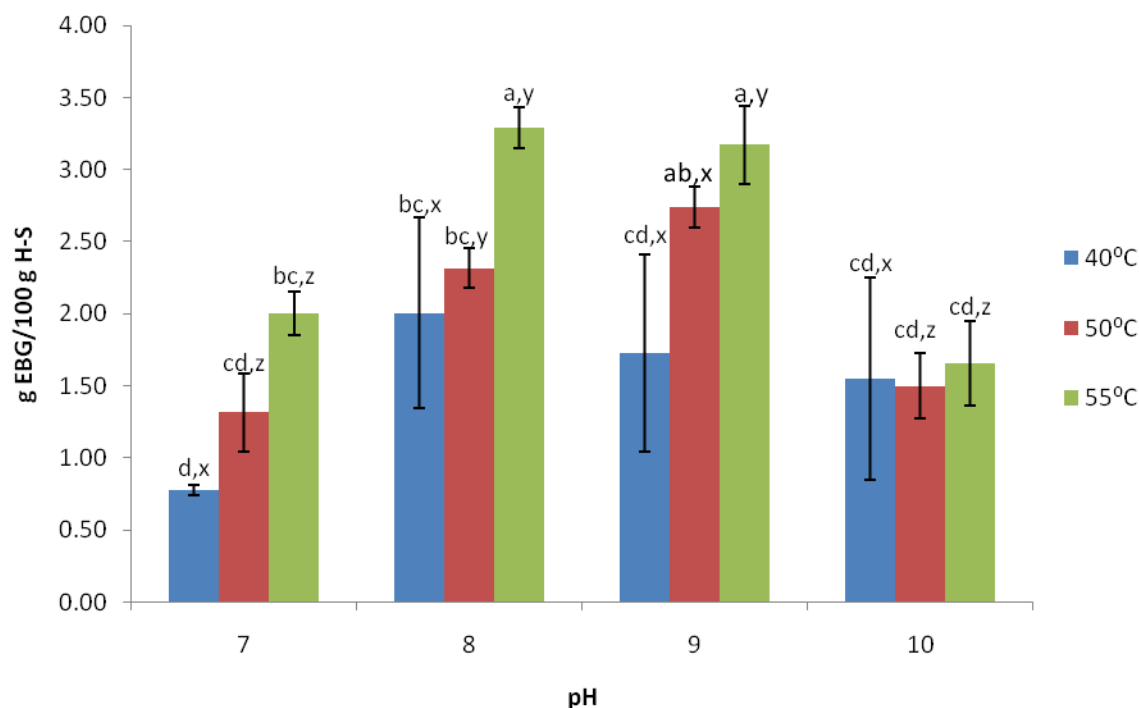


Figura. 7. Resultado de los gramos de los E β G de la mezcla H-S.

* La asignación de diferentes letras indica diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0.05$), de la letra *a-d* representa la comparación entre temperatura y pH de los extractos y de *x-z* entre tratamientos a una misma temperatura.

En estudios realizados por Ahmad *et al.*, (2009), reportaron que el contenido de proteína, de los extractos de β -glucano, disminuyeron progresivamente en función al aumento de temperatura e incrementó con el aumento del pH. Los extractos de β -glucanos extraídos mostraron una variación significativa en el rendimiento a diferentes temperaturas y valores de pH de extracción. A mayor temperatura de extracción se obtuvo más β -glucano en el extracto, mientras que el rendimiento

disminuyó a valores de pH más alcalinos, obteniendo su máximo rendimiento y recuperación de β -glucanos, en los extractos a pH 7/55 °C.

Con el incremento de la temperatura durante las extracciones y usando solventes alcalinos en lugar de agua, el porcentaje de extracción de β -glucanos incrementa. La cantidad de β -glucanos extraídos de avena y cebada con agua caliente (80 a 100 °C) varía de 50 a 70% (Lazaridou, *et al* 2007).

De acuerdo a los datos obtenidos en el presente trabajo y en comparación con los reportes de investigaciones mencionadas anteriormente, se puede concluir que al aumentar la temperatura incrementó el porcentaje de extracción, lo que no ocurrió con los valores de pH más alcalinos (9 y 10), ya que se mostró una disminución en la extracción.

Se realizó la determinación de pureza de β -glucanos de los diferentes extractos, observando que a mayor temperatura mayor porcentaje de pureza, pero con respecto al pH no se observó una tendencia ya que se mantuvieron estables sobre todo a 50 y 55 °C en los 4 valores de pH. La combinación que presentó mayor porcentaje de pureza de β -glucanos fue pH 10/55 °C con 81% (figura 8), siendo la combinación de pH 7/40 °C la que presentó menor porcentaje de pureza (11.32 %) ($p > 0.05$).

Temelli (1997) estudió como es afectada la extracción por la temperatura y pH, encontrando que el mayor porcentaje de pureza de β -glucanos (89.1%) fue a pH 7/55 °C ($p > 0.05$). Estos resultados se contraponen con los resultados obtenidos en este trabajo, ya que el mayor porcentaje de pureza fue a pH 10/55 °C, por lo que al aumentar el pH y la temperatura, aumentó el porcentaje de pureza.

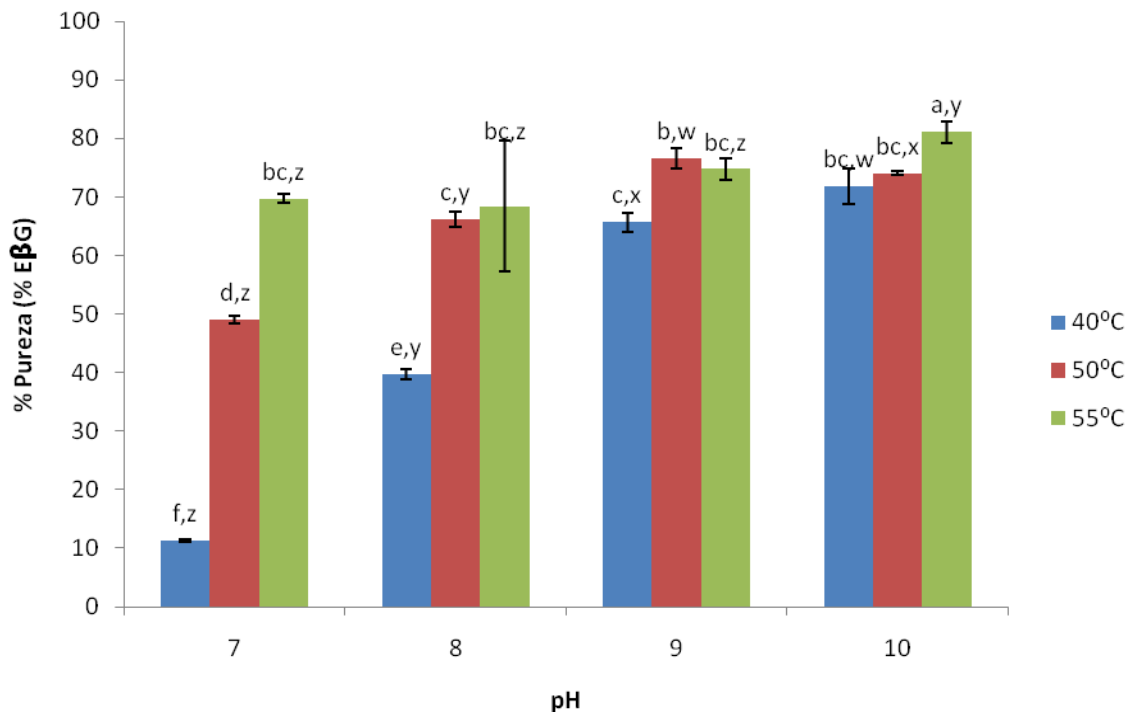


Fig. 8. Porcentaje de pureza de los EβG de la mezcla H-S.

* La asignación de diferentes letras indica diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0.05$), de la letra *a-f* representa la comparación entre temperatura y pH de los extractos y de *x-z* entre tratamientos a una misma temperatura.

7.4 ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL DE LOS EβG

Se determinó el AQP de los diferentes extractos, obteniendo que el contenido de humedad donde se presentó menor porcentaje fue a pH 7/55 °C (6.93%), pero el mayor porcentaje de humedad lo obtuvo la combinación a pH 8/55 °C (10.66 %), siendo ésta combinación la que presentó menor porcentaje de proteína (11.24%). La combinación a pH 7/40 °C presentó el mayor porcentaje de proteína (60%) y cenizas (14.70%) pero el menor porcentaje de almidón (3.25%). La combinación a pH 9/55 °C fue la que obtuvo mayor porcentaje de almidón (6.48%), y la combinación que obtuvo menor porcentaje de cenizas fue a pH 10/55 °C. Debido a la eficiencia del lavado con

éter de petróleo para eliminar la fracción lipídica no fueron detectados la presencia de lípidos. En la tabla 6 se observan los resultados obtenidos en la composición química proximal de cada extracto.

7.4.1 Proteínas

Entre los cereales, la cebada y el maíz son los que contienen el mayor porcentaje de prolaminas (52 y 55% respectivamente). Aproximadamente el 80% de las proteínas del grano es de almacenamiento y reserva. La fracción proteica más abundante en la mayoría de los cereales son las prolaminas, las cuales son insolubles en agua, pero solubles en etanol (~70%). En la cebada las principales prolaminas ricas en azufre son las hordeínas B, que forman polímeros mediante enlaces disulfuro, y poca cantidad de γ -hordeína (Eliasson, y Tatham, 2001). La adición de ácido o álcali aumenta la solubilidad por formación de sales. La solubilidad en disolventes orgánicos no es muy buena a consecuencia del carácter polar de los compuestos (Belitz y Grosch, 1997). Otro grupo de proteínas abundantes en la cebada son las glutelinas, que están representadas por las hordeninas, las cuales son solubles en soluciones ácidas alcalinas diluidas, o por soluciones de agentes disociantes (SDS, jabones, urea, guanadina). Las glutelinas son las principales proteínas estructurales del endospermo. Al utilizar una condición alcalina se estaría promoviendo la solubilización de las glutelinas, en específico de las hordeninas, mientras que una solución de etanol (~70%) promueve la solubilización de prolamina, que es el caso de las hordeínas.

Al incrementar el pH y la temperatura, disminuyó el contenido de proteína en los extractos obtenidos, incrementando el contenido de fibra. Se estarán solubilizando las hordeninas, las cuales representan aproximadamente el 23%. En una etapa posterior son precipitados al ajustar pH a 4.5. Durante el estudio se pudo observar que esto puede estar relacionado con el porcentaje de pureza de los extractos: a mayor temperatura y pH mayor porcentaje de pureza, a menor pH y temperatura, mayor porcentaje de proteína.

Tabla 6. Composición química proximal de los EβG.

COMBINACIÓN		HUMEDAD%	CENIZAS%	PROTEÍNA%	EBG %	GRASAS%	ALMIDÓN%
pH	Temp	±DS	±DS	±DS	±DS	±DS	±DS
7	40 °C	8.16±0.07^{g,z}	14.70±0.60^{a,x}	60.00±0.26^{a,w}	11.32±0.16^f	N/D	3.25±0.27^{f,z}
7	50°C	8.25±0.10 ^{g,z}	6.42±0.81 ^{c,x}	32.04±0.05 ^{c,w}	49.01±0.62 ^d	0.030	3.80±0.20 ^{ef,z}
7	55 °C	6.93±0.24 ^{h,z}	4.04±0.23 ^{e,x}	14.24±0.24 ^{h,x}	69.75±0.75 ^{bc}	0.017	4.59±0.22 ^{cde,y}
8	40 °C	8.18±0.16 ^{g,z}	9.60±0.29 ^{b,y}	37.83±0.11 ^{b,x}	39.70±0.83 ^e	N/D	3.40±0.20 ^{f,z}
8	50 °C	9.26±0.16 ^{cd,y}	5.25±0.87 ^{d,x}	17.14±0.21 ^{f,y}	66.27±1.32 ^c	N/D	5.22±1.10 ^{bc,y}
8	55 °C	10.66±0.22^{a,x}	3.13±0.26 ^{e,y}	11.24±0.61^{j,z}	68.42±11.32 ^{bc}	N/D	4.97±0.14 ^{bcd,x}
9	40 °C	8.92±0.13 ^{e,x}	4.20±0.30 ^{e,z}	23.32±0.61 ^{d,y}	65.70±1.58 ^c	N/D	6.13±0.16 ^{a,x}
9	50 °C	10.10±0.03 ^{b,x}	3.44±0.25 ^{e,y}	16.09±0.57 ^{g,z}	76.67±1.71 ^b	N/D	5.41±0.03 ^{b,y}
9	55 °C	9.40±0.16 ^{c,y}	1.00±0.49 ^{f,z}	14.83±0.41 ^{h,x}	74.77±1.88 ^{bc}	N/D	6.48±0.17^{a,w}
10	40 °C	8.54±0.13 ^{f,y}	6.61±0.82 ^{c,y}	18.89±0.20 ^{e,z}	71.88±3.06 ^{bc}	N/D	4.48±0.15 ^{cde,y}
10	50 °C	8.16±0.12^{g,z}	3.95±0.58 ^{e,y}	19.30±0.27 ^{e,x}	74.09±0.38 ^{bc}	N/D	4.50±0.05 ^{cde,yz}
10	55 °C	9.07±0.09 ^{ed,y}	0.68±0.08^{f,z}	13.05±0.14 ^{i,y}	81.10±1.81^a	N/D	4.28±0.06 ^{de,z}

* La asignación de diferentes letras indica diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0.05$), de la letra *a-k* representa la comparación entre temperatura y pH de los extractos y de *w-z* entre tratamientos a una misma temperatura.

Estudios realizados por Temelli (1997), reportaron que el contenido de proteína de la harina de la variedad Condor fue de $16.30 \pm 0.09\%$. El contenido de proteína de los extractos disminuyó con pH 7 y 8/55 °C, lo que difiere con este trabajo, ya que con estos valores de pH, se obtuvieron los mayores porcentajes de proteína, pero está relacionado indirectamente con la temperatura, ya que al aumentar esta, los valores disminuyeron. Ortiz (2010), analizó la composición química de un extracto de β -glucano (pH 9/50 °C), obteniendo que el porcentaje de proteína fue de 16.63%, resultado que fue similar a el resultado obtenido con esta combinación.

7.4.2 Almidón

Durante la extracción se pudo llevar a cabo la separación del almidón de los β -glucanos, siendo la combinación de pH 9/55°C la que obtuvo mayor porcentaje de almidón (6.48%). De acuerdo con Temelli (1997), el contenido de almidón en los extractos oscilaron entre 0.79 y 1.71%, mientras que el contenido de almidón en toda la harina fue de $54.88 \pm 0.33\%$, donde hubo un ligero incremento en el contenido de almidón de los extractos con el aumento de la temperatura. Esto se puede deber al hecho del comienzo de la gelatinización del almidón por arriba de 60 °C (Lazaridou *et al.*, 2007).

7.5 PROPIEDADES FUNCIONALES DE LOS E β G

De los extractos obtenidos, los resultados para la capacidad emulsionante y capacidad de retención de agua se muestran a continuación.

7.5.1 Capacidad de emulsificación

De acuerdo a los porcentajes de proteína que reportaron los extractos, la capacidad de emulsificación se ve afectada por ésta, ya que la combinación de pH 7/40 °C fue la que obtuvo una mayor capacidad de emulsificación (97%) (Figura 9) a diferencia de las demás combinaciones. Debido a que no todos los extractos presentaron capacidad emulsionante, no fueron reportados y por lo tanto tampoco se pueden observar en la gráfica.

La estabilidad de las emulsiones alcanzadas por los extractos a un pH 7/50 y 55 °C fueron similares pero mayores ($p < 0.05$) que los otros extractos. Combinaciones con mayor temperatura y pH llevan a una menor estabilidad de emulsión.

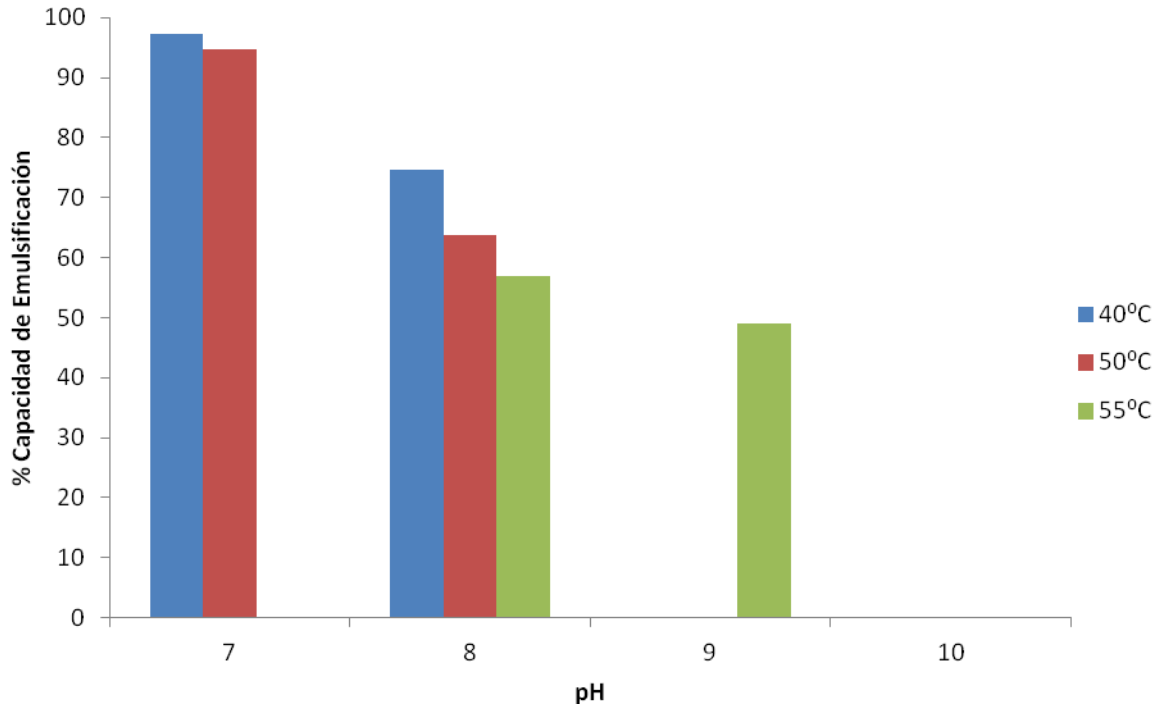


Figura 9. Porcentaje de la capacidad de emulsificación de los EβG de la mezcla H-S.

Temelli (1997), reportó que las emulsiones con concentraciones (0.02 g) de β-glucanos fueron más estables un 63.4% (pH 7/55 °C) después de centrifugar las muestras.

En estudios realizados por Zhao *et al.*, (2011), encontraron que una modificación química de la glutelina (la segunda proteína más abundante de almacenamiento en la cebada, 35-45%), removiendo un grupo amida de la estructura química, produce un ingrediente superior para uso como emulsificante en alimentos, por lo que se ha demostrado que las glutelinas tienen excelentes propiedades emulsificantes lo que permite adsorber y dispersar gotas de aceite rápidamente.

De acuerdo con pruebas realizadas por Kontogiorgos *et al* (2004), las muestras de β -glucanos con bajo peso molecular ($\sim 40 \times 10^3$ Da) estabilizaron las emulsiones en la formación de crema por medio de la generación de redes en la fase continua mientras que las muestras con β -glucanos de alto peso molecular ($\sim 110 \times 10^3$ Da) aumentaron la viscosidad de la fase continua.

7.5.2 Capacidad de retención de agua

Los resultados obtenidos de CRA mostraron que a medida que fue aumentando el pH y la temperatura, las muestras mostraron una mayor hidratación, por lo que la combinación que mostró una mayor capacidad de retención de agua fue de pH 10/55 °C (8.26 g de agua/g de muestra) (fig. 10).

En estudios realizados por Symons y Brennan (2004), obtuvieron fracciones purificadas, donde la fracción pH 7/55 °C, que tuvo mayor retención de agua fue de 8.37 g/g de peso seco, lo que difiere de los resultados obtenidos en este trabajo, ya que el extracto que obtuvo mayor CRA fue la que obtuvo mayor contenido de β -glucanos, por lo que el tratamiento de extracción afectó significativamente la capacidad de retención de agua de las fracciones de β -glucanos de cebada. Se ha demostrado que estas diferencias en resultados están relacionadas con la cantidad de fibra soluble e insoluble (Symons y Brennan, 2004).

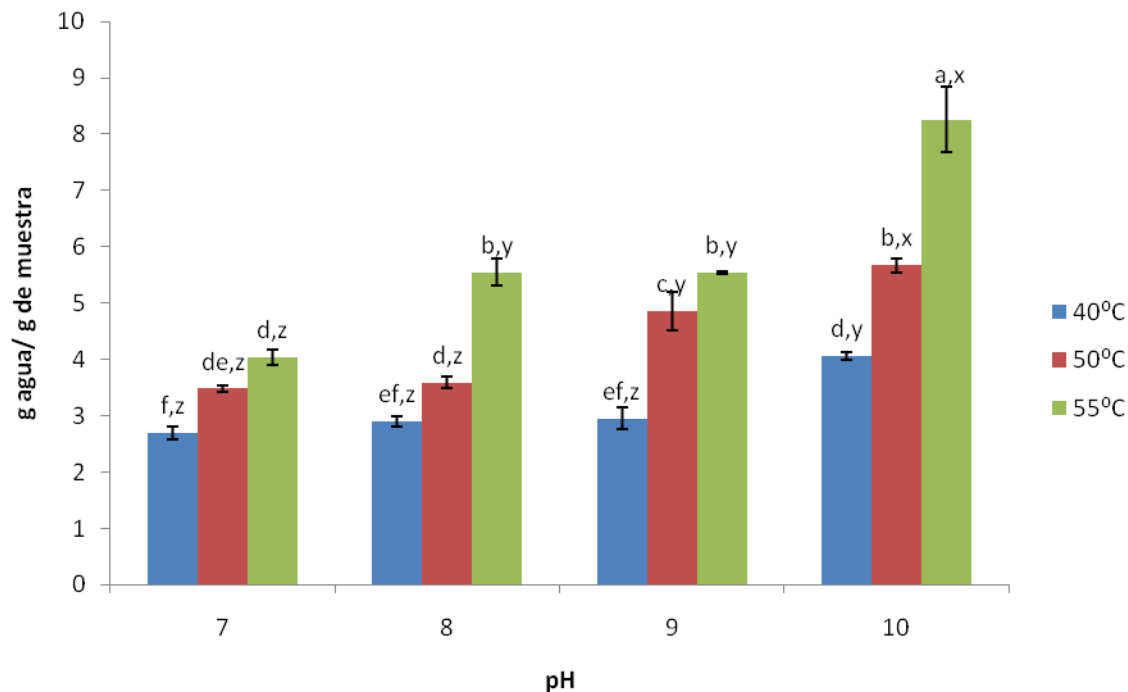


Fig. 10. Porcentaje de capacidad de retención de agua de los E β G de la mezcla H-S.

*La asignación de diferentes letras indica diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0.05$), de la letra *a-f* representa la comparación entre temperatura y pH de los extractos y de *w-z* entre tratamientos a una misma temperatura.

7.5.3 Gelificación

Durante la metodología de este diseño experimental se hizo la descripción de los geles con las diferentes combinaciones de los extractos, sin obtener algún resultado numérico ya que se obtuvieron geles muy suaves que no pudieron ser evaluados por el texturómetro. Existen dos mecanismos que explican la gelatinización de los β -glucanos de cereales. El primero involucra las interacciones de enlaces de hidrógeno entre secuencias largas de celulosa, o más de tres monómeros contiguos de uniones β (1 \rightarrow 4), las cuales son uniones de celulosa. Por otro lado, los polímeros están asociados a través de unidades consecutivas de celotriosil. Además, las interacciones entre las unidades consecutivas de celotriosil pueden ser el principal factor responsable de la formación de geles en los β -

glucanos de cereales. (Li, *et al*, 2005). En la tabla 7 se muestran las descripciones de todas las combinaciones a diferentes concentraciones, donde se puede observar que a pesar que se formaron geles suaves, a mayor concentración de los extractos de β -glucanos y a mayor temperatura y pH, los geles fueron más espesos, posiblemente a que la triple hélice de los β -glucanos es desnaturalizada en soluciones alcalinas, provocando la pérdida de la capacidad de gelificación de los polisacáridos (Velasco, *et al.*, 2009).

Tabla 7. Descripciones de geles de los E β G a diferentes concentraciones.

COMBINACIÓN		CONCENTRACIÓN		
pH	Temp	3%	4%	5%
7	40 °C	N/D	N/D	N/D
7	50 °C	La fibra se precipitó, quedó muy hidratada, pero no formó gel.	El sobrenadante se observó turbio, la fibra se precipitó, quedando partículas suspendidas. No hubo gelificación pero fue más denso que el anterior,	El sobrenadante se observó turbio, la fibra se precipitó, quedando partículas suspendidas. No hubo gelificación pero fue más denso que el anterior,
7	55 °C	La fibra se precipitó, quedaron partículas suspendidas y espesas, sobrenadante turbio.	La fibra no se homogenizó del todo, se precipitó en el fondo del recipiente, no fue muy espeso y sobrenadante turbio.	Una capa de la fibra quedó totalmente gelificada en el fondo. El sobrenadante quedó más turbio.
8	40 °C	La fibra no se homogenizó por completo quedando ésta precipitada al fondo.	Hubo muchas partículas suspendidas, no se formó gel puesto que la muestra quedó muy líquida.	La muestra quedó muy espesa por lo que casi no hubo partículas resuspendidas.
8	50 °C	Se formó un gel ligeramente espeso, con algunas partículas suspendidas.	Se formó un gel ligeramente espeso, casi no tuvo partículas suspendidas. Se observó una mayor homogenización.	Gel totalmente espeso, se observaron grumos y muy pocas partículas suspendidas.

8	55 °C	Una ligera capa se precipitó en el fondo y el sobrenadante totalmente líquido sin partículas suspendidas.	Se formó una sinéresis ligera, la fibra se homogenizó parcialmente quedando un gel muy suave.	Totalmente espeso y homogenizado.
9	40 °C	La mayor parte de la muestra con partículas suspendidas, nada homogenizado.	La fibra formó una capa en el fondo muy espesa, el sobrenadante se presentó muy turbio.	El extracto formó una capa muy espesa en la parte superior, por lo que en la parte inferior el líquido estaba muy turbio y espeso.
9	50 °C	Se formó una ligera capa de fibra en el fondo del recipiente, el sobrenadante se formó totalmente líquido.	En el fondo se observó una capa del extracto, el sobrenadante muy líquido y casi transparente.	Se formó una gelificación a pesar de que la muestra no estaba muy bien homogenizada.
9	55 °C	En el fondo se observó un precipitado muy suave y el sobrenadante casi estuvo transparente.	Se formó una capa muy suave y con ligera gelificación. El sobrenadante fue casi transparente sin precipitaciones.	Esta muestra fue muy parecida a las anteriores de ésta combinación, fue un poco más gruesa, el sobrenadante no presentó partículas suspendidas y ligeramente turbio.
10	40 °C	Se formaron pequeños grumos y la muestra en general se observó turbia.	Se formó una gelificación, casi no se formó líquido y presentó ligeros grumos.	Gel muy espeso, por lo que no hubo una fase líquida con formación de grumos.
10	50 °C	Muestra ligeramente espesa, se formaron grumos en la parte intermedia, el líquido se vio uniforme en cuanto a color.	Se formó un gel muy espeso, se observó una capa más gruesa en la parte inferior, y con un color más oscuro.	La muestra presentó un color mas oscuro (café-beige), ligeramente gelificados con algunos grumos.
10	55 °C	Se formaron grumos, el líquido fue muy turbio.	La muestra presentó sinéresis casi se formó un gel.	En la parte superior e inferior se observaron grumos y en general todo se observaba turbio.

8. CONCLUSIONES

- ❖ Del total de extracciones realizadas, las combinaciones con mejor porcentaje de extracción de β -glucanos fue a pH 8 y 9/55 °C (3.29 y 3.17 g EBG/100 g H-S), esto debido al efecto que tuvo el pH y la temperatura sobre estos.
- ❖ El extracto obtenido a pH 10/55 °C obtuvo el mejor porcentaje de pureza (81%), afectando tanto el pH como la temperatura sobre los extractos.
- ❖ En cuanto al análisis químico proximal, la combinación pH 7/40 °C obtuvo el mayor porcentaje de proteína y cenizas (60 y 14.70% respectivamente), en donde se observó una tendencia que a medida que aumentó la temperatura los valores de los extractos de ambos disminuyeron.
- ❖ Los lavados de los extractos con éter de petróleo resultaron eficientes ya que debido a la sensibilidad del equipo que analizó las muestras, no fue detectable el porcentaje de grasa en los extractos.
- ❖ La capacidad de emulsión fue mejor en aquellos extractos que obtuvieron mayor contenido de proteína, por lo que la combinación pH 7/40 °C obtuvo el mayor porcentaje de capacidad de emulsión (97%).
- ❖ La combinación que mostró una mejor retención de agua fue a pH 10/55 °C (8.26 g de agua/g de muestra), lo cual se relaciona que a mayor cantidad de fibra que tenga el extracto, mejor será su capacidad para retener agua.
- ❖ Un extracto con mayor o menor pureza se podrá utilizar dependiendo del fin que se le quiera dar (fisiológico o tecnológico), analizando también si sus propiedades funcionales son beneficiosas para éstos.

9. RECOMENDACIONES

- ❖ Estudiar el efecto de condiciones de extracción de β -glucanos sobre el peso molecular y sus implicaciones en las propiedades funcionales tanto tecnológicas como fisiológicas, la relación entre el peso molecular de los β -glucanos y su relación con la temperatura y pH.
- ❖ Caracterizar la fracción insoluble de β -glucanos, esto con la finalidad de analizar sus propiedades y comparar los resultados con la fracción soluble, y sus efectos fisiológicos.
- ❖ Evaluar las propiedades reológicas de cada uno de los extractos obtenidos a las diferentes combinaciones de pH y temperatura, ya que son de gran importancia para la industria tecnológica.
- ❖ Evaluar los efectos fisiológicos de los extractos *in vivo*, para comprobar sus efectos en el organismo y así comparar los resultados con otros estudios.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahmad, A., Muhammad, A. F., Zahoor, T., y Nawaz, Haq. 2009. Extraction of β -Glucan from oat and its interaction with glucose and lipoprotein profile. *Pakistan J. Nutr.* 8(9): 1486-1492.
- Aman, P., y Graham, H. 1987. Analysis of total and insoluble mixed-linked (1 \rightarrow 3), (1 \rightarrow 4)- β -D-Glucans. *J. Agric. Food Chem.* 35(5): 705-709.
- Ames, N., Rhymer, C., Rossnagel, B., Therrian, M., Ryland, D., Dua, S., y Ross, K. 2006. Utilization of diverse hulles barley properties to maximize food product quality. *Cereal Food World.* 51(1): 23-28.
- AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International. 925.10 (Solids (total) and moisture in flour); 996.11 (Starch (total) in cereal products); 923.03 (Ash). 16 ed. 1999.
- Behall, K. M., Scholfield, D. J., y Hallfrisch, J. 2004. Diets containing barley significantly reduce lipids in mildly hypercholesterolemic men and women. *Am. J. Clin. Nutr.* 80: 1185-1193.
- Belitz, H. D., y Grosch, W. 1997. Aminoácidos, péptidos, proteínas. En: *Química de los alimentos*. 2ª edición. Acribia, España. Pp: 19-20.
- Biesalski, K. H., y Grimm, P. 2009. Hidratos de carbono, Fibra: efectos. En: *Nutrición, texto y atlas*. 1ª edición. Editorial Panamericana. Pp: 80.
- Bourges H., Casanueva, E., y Rosado, J. L. 2009. Recomendaciones de Ingestión de Nutrimientos para la Población Mexicana, Bases Fisiológicas Tomo 2. Editorial médica Panamericana, México D. F.
- Brennan, C. S., y Cleary, L. J. 2005. The potential use of cereal (1 \rightarrow 3, 1 \rightarrow 4) – β – D-glucans as functional food ingredients. *J. Cereal Sci.* 42: 1-13.
- Burkus, Z., y Temelli, F. 1998. Effect of extraction conditions on yield, composition and viscosity stability of barley β -glucan gum. *Cereal Chem.* 75: 805-809.
- Cabré, E. Implicaciones de las características de las fibras en su capacidad terapéutica.

- http://www.freseniuskabi.es/nutricionenteral/pdf/simposios/Simposio_2004_Madrid_Fibra_Alimentaria.pdf. Acceso 8 de Marzo 2011.
- Carabin, I. G., Lyon, M. R., Wood, S., Pelletier, X., Donazzolo, Yves., y Burdock, G. A. 2009. Supplementation of the diet with the functional fiber PolyGlycoplex® is well tolerated by healthy subjects in a clinical trial. *Nutri J.* 8(9): 1-11.
- Cargill. Health and food Technologies.
http://www.barleyfoods.org/Health_Benefits_of_Barley.pdf. Acceso 10 de julio 2011.
- Casiraghi, M. C., Garsetti, M., Testolin, G y Brighenti, F. 2006. Post-prandial responses to cereal products enriched with barley β -glucan. *J. Am Coll Nutr.* 25(4): 313-320.
- Charalampopoulos, D., Wang, R., Pandiella, S. S, y Webb, C. 2002. Application of cereals and cereal components in functional foods: a review. *Intern. J. Food Micro.* 79: 131-141.
- Chen, J. y Raymond, K. 2008. Beta-glucans in the treatment of diabetes and associated cardiovascular risks. *Vascular Health and Risk Management.* 4(6): 1265-1272.
- Cruz, L. A. L. 2007. Correlación del método de Kjeldhal con el método de combustión Dumas automatizado para determinación de proteína en alimentos. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. México. Pp: 37-48.
- De Peña, M, F. 2000. Cereales y derivados. En: *Alimentos. Composición y propiedades*. 1ª edición (ed). Astiasarán, I. A. Mc Graw-Hill. Pp: 135-144.
- Ehrenbergerová, J., Březinová, N. B., Psota, V., Hrstková, P., Cerkal, R. y Newman, C. W. 2008. Changes caused by genotype and environmental conditions in Beta-glucan content of spring barley for dietetically beneficial human nutrition. *Plant Food Hum. Nutr.* 63: 111-117.
- Eliasson, A. C., y Tatham, A. 2001. Almidones y proteínas de los cereales. En: *Cereales y Productos Derivados. Química y Tecnología*. Dendy, D. A. V y Dobraszczyk, B. J. Acribia S. A, Zaragoza, España. Pp 87-107.

- Fastnaught, C. E. 2001. Barley fiber. En: *Handbook of dietary fibre*. (Ed) Cho, S. S. Marcel Dekker Incorporated, New York, NY, Pp: 519-539.
- Finocchiaro, F., Cavallero, A., Ferrari, B., Gianinetti, A., y Stanca, A.M. 2005. Barley for development of functional foods to improve human health in the third millenium. En: *Food Barley: importance, uses and local knowledge*. Grando, S y Macpherson, H. G. ICARDA. Pp: 145-148.
- Fundación Guanajuato Produce. Cadena Agroalimentaria de Cebada. <http://www.snitt.org.mx/pdfs/demanda/cebada.pdf>. Acceso: 3 de febrero 2010.
- Ghoush, M. A., Samhoury M., Al-Holy, M. y Herald, T. 2007. Formulation and fuzzy modeling of emulsion stability and viscosity of a gum-protein emulsifier in a model mayonnaise system. *J. Food Engineering*. 84: 348-357.
- International Food Information Council. 2008. Fiber Fact Sheet. <http://www.foodinsight.org/Content/6/FINAL%20IFICFndtnFiberFactSheet%2011%2021%2008.pdf>. Fecha de acceso: 20 julio de 2011.
- Izydorczyk, M.S., Macri, L.J., MacGregor, A.W. 1998. Structure and physicochemical properties of barley non-starch polysaccharides – I. Water-extractable β -glucans and arabinoxylans. *Carbohydr. Pol.* 35: 249-258.
- Keagy, P. M., Knuckles, B. E., Yokoyama, W. H., Kahlon, T. S., y Hudson, C. A. 2001. Health-promoting properties of a high β -glucan barley fraction. *Nutrition today*. 36(3): 121-123.
- Kent, N. L. 1987 Cebada. En: *Tecnología de los cereales*. 3ª edición (ed). Acribasa, S. A., Zaragoza, España. Pp: 154-164.
- Kontogiorgos, V., Biliaderis, C. G., Kiosseoglou, V. y Doxastakis, G. 2004. Stability and rheology of egg-yolk-stabilized concentrated emulsions containing cereal β -glucans of varying molecular size. *Food Hydrocolloids*. 18: 987–998.
- Lazaridou, A. y Biliaderis, C. G. 2007. Molecular aspects of cereal β -glucan functionality: Physical properties, technological applications and physiological effects. *J. Cereal Sci.* 46(2): 101-118.

- Lazaridou, A., Biliaderis, C. G., e Izydorczyk, M. S. 2007 Cereal β -glucans: Structures, Physical Properties and Physiological Functions. En: *Functional Food Carbohydr.* Biliaderis, C. G e Izydorczyk. 1a ed. CRC Press. Pp: 2-7.
- Li, W., Cui, S. W., y Kakuda, Y. 2005. Extraction, fractionation, structural and physical characterization of wheat β -D-glucans. *Carbohydr Pol.* 63 (2006): 408-416.
- Lifschitz, C. H., Grusak, M. A., y Butte N. F. 2002. Carbohydrate digestion in humans from a β -glucan-enriched barley is reduced. *J. Nutr.* 132: 2593-2596.
- López, P. P., Prieto, G. F., Gaytán, M. M., y Román, G. A.D. 2007. Caracterización fisicoquímica de diferentes variedades de cebada cultivadas en la región centro de México. *Rev. Chil. de Nutr.* 34(1): 1-13.
- Mataix, V. J., y Goñi, C. I. 2009. Fibra dietética. En: *Tratado de Nutrición y Alimentación* Tomo 1 Nutrientes y alimentos. 1ª edición (ed). Mataix, V. J. Oceano, España. Pp 166-167.
- McCleary, B. V. 2006. AOAC 995.16, Megazyme Mixed-Linkage Beta-Glucan. Megazyme International. Total Starch assay procedure (amyloglucosidase/ α -amylase method). Ireland, 2009.
- Molina, M. M y Martín, I. A. 2007. La fibra dietética procesada como alimento funcional. *Amb. Farm. Nutr.* 26(1): 70-77.
- Monografía Cebada.
<http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Documents/Monografias/MicrosoftWord-MONOGRAFIACEBADA-octubre.pdf>. Acceso: 3 febrero 2010.
- Muñoz, D. V. 2008. Fermentación Ácido Láctica de Extractos de Cebada y Malta por *Lactobacillus Plantarum*. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. México. Pp 18-20.
- Newman, R. K., y Newman, W. C. 2008. Barley food product research and development. En: *Barley for food and health: science, technology and products.* 1a edición (ed). Wiley, USA. Pp 145.
- NMX-FF-043-SCFI-2003. Productos alimenticios no industrializados para consumo humano-cereal-cebada maltera (*Hordeum vulgare* L y *Hordeum distichum* L.)

- Ortiz, M. V. 2010. Extracción y caracterización de β -glucanos de variedades de cebada de la región centro del país. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. México. Pp 18-20.
- Pamplona, R. J. 2004. Alimentos para el aparato digestivo. En: *Enciclopedia de los alimentos y su poder curativo*. Biblioteca educación y salud. Pp: 150-174.
- Prieto, T. P. A., y Villaseñor, M. S. 2009. Dieta y Salud. Instituto de Nutrición y Salud Kellog's.
- Robertson, J.A., Majsak-Newman, G., Ring, S.G, Selvendran, R.R. 1997. Solubilization of mixed linkage (1 \rightarrow 3),(1 \rightarrow 4)- β -D-glucans from barley: effects of cooking and digestion. *J. Cereal Sci.* 25: 275-283.
- Shimizu, C., Kihara, M., Aoe, S., Araki, S., Ito, K., Hayashi, K., Watari, J., Sakata, Y., e Ikegami, S. 2007. Effect of high β -glucan barley on serum cholesterol concentrations and visceral fat area in Japanese men- A randomized, double-blinded, placebo-controlled trial. *Plant Foods Hum. Nutr.* 63: 21-25.
- Suter, P. M. 2005. Carbohydrates and dietary fiber. *HEP.* 170: 231-261.
- Symons, L. J., y Brennan, C. S. 2004. The effect of barley β -glucan fiber fractions on starch gelatinization and pasting characteristics. *J. Food. Sci.* 69(4): 257-261.
- Talati, R., Baker, W. L., Pablonia, M. S., White, C. M., y Coleman, C. I. 2009. The effects of barley-derived soluble fiber on serum lipids. *Ann Fam. Med.* 7: 157-163.
- Temelli, F. 1997. Extraction and Functional Properties of Barley β -Glucan as Affected by Temperature and pH. *J. Food. Sci.* 62: 1194-1197.
- Valencia, G. F. E., y Román, M. M. O. 2006. Caracterización fisicoquímica y funcional de tres concentrados comerciales de fibra dietaria. *Rev. de la Fac. de Quím. Farm.* 13(2): 54-60.
- Velasco, E. S., Areizaga, J., Irastorza, A., Dueñas, T. M., Santamaria, A., y Muñoz, E. M. 2009. Chemical and rheological properties of the β -glucan produced by *Pediococcus parvulus* 2.6. *J. Agric. Food Chem.* 57: 1827-1834.
- Wood, P.J., Weisz, J., y Blackwell, B.A. 1991. Molecular characterization of cereal β -D-glucans. Structural analysis of oat β -D-glucan and rapid structural evaluation of

- β -D-glucans from different sources by high-performance liquid chromatography of oligosaccharides released by lichenase. *Cereal Chem.*, 68, 31.
- Woodward, J.R., Phillips, D.R., y Fincher, G.B. 1988. Water-soluble (1 \rightarrow 3),(1 \rightarrow 4)- β -D-glucans from barley (*Hordeum vulgare*) endosperm. IV. Comparison of 40°C and 65°C soluble fractions. *Carbohydr. Polym.* 8, (85).
- Young, S. K., Ji, H. S., Young, Y. L., Cho, K, H y Kyun, Y. R. 2006. Biomedical issues of dietary fiber β -glucan. *J. Korean Med. Sci.* 21: 781-789.
- Zhao, J., Tian, Z., y Chen, L. 2011. Effects of deamination on aggregation and emulsifying properties on barley glutelin. *Food Chem.* 128(4): 1029-1036.

ANEXOS

Anexo 1. Parámetros y especificaciones que debe cumplir la cebada maltera

PARÁMETROS Y ESPECIFICACIONES	%
Humedad	11.5-13.5
Granos desnudos y/o quebrados	5.0
Impurezas	2.0
Grano dañado (máximo)	10

Fuente: Norma NMX-043-SCFI-200

EQUIPOS UTILIZADOS



Agitador Baldor (Electric Industrial Motor, EU).



Molino (Modelo DC1, CHOPIN, Francia)

Horno (modelo AA2035, Scorpion Scientific, EU).





Baño de agitación horizontal (LSB-015S), Daihan Labtech CO., LTD Korea)



Centrífuga (Modelo Allegra 25R, Beckman Coulter, Inc. Germany)



Espectrofotómetro (Shimadzu UV 1601)



Determinador de N/Proteína (LECO FP-528, USA, 2000)



Determinador de grasas (LECO TFE 2000)



Homogenizador (Modelo Wise Tis HG-15D)