

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD ÁREA ACADÉMICA DE NUTRICIÓN

EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE β-GLUCANOS DE VARIEDADES DE CEBADA DE LA REGIÓN CENTRO DEL PAÍS

TESIS

Que para obtener el título de

Licenciada en Nutrición

PRESENTA

VERÓNICA ORTÍZ MONROY

Bajo la Dirección de: DR. ERNESTO ALANÍS GARCÍA



Pachuca, Hgo., Marzo del 2010



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD ÁREA ACADÉMICA DE NUTRICIÓN



De acuerdo con el artículo 134 del Reglamento de Control Escolar vigente, el jurado de examen recepcional designado, autoriza para su impresión la Tesis titulada

"Extracción y Caracterización de β-Glucanos de Variedades de Cebada de la Región Centro del País "

Que para obtener el Título de Licenciado de Nutrición sustenta la Pasante

C. Verónica Ortíz Monroy

A T E N T A M E N T E
Pachuca, Hidalgo, 16 de Marzo del 2010
"Amor, Orden y Progreso"

PRESIDENTE

DRA. NELLY DEL SOCORRO CRUZ CANSINO

SECRETARIO

DRA. NORMA GÜEMES VERA

PRIMER VOCAL

DR. FRANCISCO PRIETO GARCÍA

SEGUNDO VOCAL

DRA. ALMA DELIA ROMÁN GUTIÉRREZ

TERCER VOCAL

DR. ERNESTO ALANÍS GARCÍA

PRIMER SUPLENTE

I.Q.P. ALEJANDRA ISLAS ORTEGA

SEGUNDO SUPLENTE

M. EN B. SILVIA GUILLÉN VELASCO

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	iii
ÍNDICE DE TABLAS	iv
1.RESUMEN	1
ABSTRACT	
2. MARCO TEÓRICO	
2.1. INTRODUCCIÓN	
2.2. PRODUCTOS FUNCIONALES A BASE DE CEREAL	_
2.3 FIBRA DIETÉTICA DE GRANOS DE CEREAL Y SUS EFECTOS	
TERAPÉUTICOS	
2.4 β-GLUCANOS	6
$2.4.1$ Obtención y extracción de β -glucanos	7
2.4.2 Propiedades fisicoquímicas de β-glucano de cebada	8
2.4.2.1 Viscosidad de β-glucano de cebada	8
2.4.2.2 Gelificación de β-glucano de cebada	9
2.4.3 Efectos fisiológicos	9
2.4.3.1 Digestión	
2.4.3.2 Enfermedad cardiovascular	
2.4.3.3 Glucosa y resistencia a la insulina	
2.4.3.4 Cáncer	
2.4.3.5 Respuesta inmune	
2.5 APLICACIONES DE β -GLUCANOS EN LA INDUSTRIA DE ALI	
2.6 LA CEBADA Y SU PRODUCCIÓN	
2.6.1 Clasificación de la cebada	
2.6.2 Composición química de la cebada	
2.6.3 Producción de cebada	
2.6.4.1 Limpieza	
2.6.4.2 Humedad	
2.6.4.3 Descascarillado o Decorticado	
3. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	
4. JUSTIFICACIÓN	
5. OBJETIVOS	22
5.1 OBJETIVO GENERAL	
6. METODOLOGÍA	23

6.1 ARREGLO EXPERIMENTAL	23
6.2 OBTENCIÓN DEL GRANO	
6.3 OBTENCIÓN DE HARINA INTEGRAL	25
6.4 CUANTIFICACIÓN DE β-GLUCANOS	26
6.5 LIMPIEZA DEL GRANO	28
6.5.1 Humedad	29
6.5.2 Granos desnudos y/o quebrados	30
6.5.3 Impurezas	
6.5.4 Grano dañado	
6.6 OBTENCIÓN DE HARINA INTEGRAL	
6.7 EXTRACCIÓN DE β-GLUCANOS	
6.8 COMPOSICIÓN QUÍMICA	
6.8.1 Determinación de humedad	31
6.8.2 Determinación de cenizas	
6.8.3 Determinación de proteínas	
6.8.4 Extracción de grasas	
6.8.5 Determinación de almidón total	
6.9 CARACTERIZACIÓN DE PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS	
6.9.1 Viscosidad	
6.9.2 Gelificación	
6.9.3 Emulsión	
6.9.4 Espumado	
6.9.5 Capacidad de retención de agua (CRA)	
6.10 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE RESULTADOS	
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	40
7.1 CUANTIFICACIÓN DE β-GLUCANOS Y DETERMINACIÓN DEL	
PORCENTAJE DE HUMEDAD	
7.2 EXTRACCIÓN DE β-GLUCANOS	42
7.3 COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DE	
EXTRACTOS DE β-GLUCANOS	45
7.3.1 Viscosidad	
7.3.2 Capacidad de gelificación	
7.3.3 Capacidad de emulsión	
7.3.4 Capacidad y estabilidad de espuma	
7.3.5 Capacidad de retención de agua (CRA)	52
8. CONCLUSIONES	54
9. RECOMENDACIONES Y PERSPECTIVAS	55
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57
ANEXOS	62

ÍNDICE DE FIGURAS

		Página
1	Representación esquemática de la estructura del β-glucanos de la cebada.	6
2	Cariópside de la cebada y sus estructuras.	14
3	Producción de cebada por modalidad de temporal en el año 2008 en México.	16
4	Esquema metodológico.	24
5	Reacción de liquenasa-β-glucosidasa y reacción glucosa oxidasa.	27
6	Reacción para la determinación de nitrógeno total por el método de Kjeldahl.	33
7	Porcentaje de β-Glucanos en el grano entero de las distintas variedades del estado de Hidalgo y Puebla.	41
8	Porcentaje de Extracción de β-Glucanos de la variedad Gaviota Libres Puebla en diferentes combinaciones de pH (7, 8, 9 y 10) y temperatura (40, 45 y 50°C).	43
9	Cuantificación de β-Glucanos de los extractos obtenidos a las diferentes combinaciones de pH (7, 8, 9 y 10) y temperatura (40, 45 y 50°C) de la variedad Gaviota Libres Puebla.	44
10	Viscosidad del extracto de β-Glucano de la variedad Gaviota libres Puebla (pH 9, 50 °C).	48
11	Capacidad de Gelificación del extracto de β-Glucano de la variedad Gaviota Libres Pue. (pH 9, 50°C) en tres concentraciones distintas.	49
12	Capacidad de emulsión del extracto de β-Glucano de la variedad Gaviota Luibres Pue. (pH 9, 50°C), en tres diferentes pesos (10, 20 y 30 mg).	a 50
13	Capacidad de formación de espuma (mL) en tres distintas concentraciones (2, 2.5 y 3% p/v) de extracto de β-Glucano de la variedad Gaviota Libres Pue. (pH 9, 50°C).	51
14	Estabilidad de espuma después de 2 hrs del batido en tres concentraciones diferentes (2, 2.5 y 3% p/v) de extracto de β-Glucano de la variedad Gaviota Libres Pue. (pH 9, 50°C).	52 e
15	Capacidad de retención de agua en tres diferentes pesos (300, 500 y 80 mg) de extracto de β -Glucano de la variedad Gaviota Libres Pue. (pH 9, 50°C).	0 53

ÍNDICE DE TABLAS

		Página
1	Comparación de la fibra dietética total contenida en granos de cereales.	5
2	Taxonomía de la cebada.	13
3	Composición química de la cebada.	15
4	Variedad y estado productor de la cebada estudiada.	25
5	Parámetros y especificaciones que debe cumplir la cebada maltera.	29
6	Porcentaje de Humedad de las distintas variedades de cebada de los	40
	estados de Hidalgo y Puebla.	
7	Parámetros y especificaciones de la variedad Gaviota Libres Puebla	42
8	Composición química del extracto de β-glucano de la variedad Gaviota	46
	Libres Pue. (pH 9, 50°C).	

1. RESUMEN

Los β-glucanos son polímeros de glucosa y uno de los miembros más importantes de la fibra dietética hidrosoluble. Estructuralmente éstos son cadenas lineales de β-Dglucopiranosil a través de enlaces $(1\rightarrow 3)$ y $(1\rightarrow 4)$, encontrándose principalmente en avena y cebada. La fibra de cebada puede ser usada tanto para aplicaciones en tecnología de alimentos (mejorar el sabor, la textura, apariencia y composición nutricional de una variedad de productos) como en aplicaciones benéficas en la salud (tanto en el sistema digestivo como inmune), por ello el objetivo de este estudio fue la extracción y caracterización de β-glucanos de cebada; dicha investigación podrá dar pauta para su aplicación en la industria alimentaria. Se evaluaron 6 muestras de cebada (tanto del Edo. de Hidalgo como del Edo. de Puebla) a las cuales se les cuantificó el contenido de β-glucanos. Una vez seleccionada la variedad con mayor porcentaje β-glucanos, se sometió a extracciones con diferentes combinaciones de temperatura (40, 45 y 50°C) y pH (7, 8, 9 y 10), obteniendo la mejor combinación de extracción a pH 9 y 50°C con una pureza de 66.64% (en base seca) (p<0.05), posteriormente se realizó la caracterización fisicoquímica del extracto de β-glucano (viscosidad, gelificación, capacidad de emulsión, capacidad y estabilidad de espuma, y retención de agua). Los extractos obtenidos bajo estas condiciones mostraron tener un comportamiento pseudoplástico formando geles suaves, con gran capacidad de formación de espuma (40 mL) a una concentración de 3% p/v y con una estabilidad de espuma del 50% con respecto al volumen inicial. Fue capaz de emulsionar hasta 19.58 mL de cada 60 mL de aceite, así como una capacidad de retención de agua (CRA) de hasta 3.09 g/g peso seco (p<0.05). Se concluyó por tanto que el pH y la temperatura están relacionados con la extracción de los β-Glucanos.

Palabras Clave: cebada, fibra dietética, β-glucanos.

ABSTRACT

The β-glucans are polymers of glucose and one of the most important members of the hydrosoluble dietary fiber. Their structural form are linear chains of β-Dglucopyranosyl through links $(1 \rightarrow 3)$ and $(1 \rightarrow 4)$ and being mainly in oats and barley. The barley fiber can be used for food technology applications (to improve the taste. the texture, the nutritional appearance and composition of a variety of products) and like in beneficial applications in health (as in the digestive system and in the immune system) therefore the objective of this study was to make an extraction and analysis of barley β-glucans; this research will be a guideline for its application in the food industry. In this study were evaluated six types of barley (In Hidalgo state and Puebla state) in which the content of \(\beta\)-glucans were quantified. Once having selected the variety with higher percentage of β-glucans, it was subjected an extraction with different combinations of temperature (40, 45 and 50°C) and pH (7, 8, 9 and 10) obtaining the best combination of extraction (pH 9, 50 °C), later an extraction was make and Physical-Chemistry characterization of β-glucans extract (viscosity, gelation, capacity of emulsion, capacity and stability of foam and water retention). Finding that the best combination of extraction and recovery was to pH 9/50°C with a purity of 66.64% (in a dry base) (p<0.05). The obtained extracts under these conditions showed a pseudo-plastic performance making soft gels with a great capacity of foam formation (40 ml) at 3% w/v concentration and with a foam stability of 50% regarding the initial volume. It was able to emulsion up to 19.58 ml for each 60 ml of oil, as well as a retention water capacity (RWC) up to 3.09 g/g in dry weight (p<0.05). It was concluded that pH and the temperature are both related with the β glucans extraction.

Key Words: barley, dietary fiber, β -glucans.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. INTRODUCCIÓN

El interés en desarrollar alimentos funcionales va en aumento, conducido en gran parte por el mercado potencial de alimentos que promueven la salud y bienestar de los consumidores. El concepto de alimentos funcionales incluye tanto alimentos como ingredientes de alimentos, y son aquellos que proporcionan un efecto benéfico para la salud y/o para reducir el riesgo de enfermedades crónicas, más allá de las funciones nutricionales básicas (Charalampopoulos et al., 2002). Uno de estos componentes funcionales es la fibra dietética, la cual incluye diferentes tipos de carbohidratos derivados de la pared celular de las plantas que no pueden ser hidrolizados por las enzimas digestivas humanas. Las formas específicas de fibra dietética son fácilmente fermentables por un conjunto de bacterias colónicas como las bifidobacterias y especies de lactobacilos, las cuales aumentan su población celular con la producción conjunta de ácidos grasos de cadena corta (AGCC). Estos ácidos, especialmente butirato, acetato y propionato, proporcionan energía metabólica para el huésped y una acidificación del intestino, resultando en un mantenimiento saludable de la microbiota del huésped (Kontula et al., 1998; Fontecha, 2003).

Estudios clínicos, han demostrado que la fibra dietética puede promover beneficios fisiológicos incluyendo laxación y disminución tanto de colesterol (McIntosh *et al.*, 1991) como glucosa en sangre, arterioesclerosis, prevención de enfermedades cardiovasculares, diabetes y obesidad (Lifschitz *et al.*, 2002; Pins y Kaur, 2006; Yokoyama, 2006). Por otro lado la fibra de cebada tiene la capacidad de mejorar algunas características sensoriales de los alimentos (mejorando el sabor, la textura, apariencia y composición nutricional) (Fastnaught, 2001).

2.2. PRODUCTOS FUNCIONALES A BASE DE CEREAL

En años recientes, los cereales han sido investigados por su uso potencial en el desarrollo de alimentos funcionales. Los cereales abarcan cerca del 73% del total del área cosechada en el mundo y contribuyen con aproximadamente el 60% de la producción alimentaria del mundo, proporcionando fibra dietética, proteínas, energía, minerales y vitaminas requeridas por el ser humano. Las posibles aplicaciones reportadas de cereales o constituyentes de éstos en formulaciones de alimentos funcionales se resumen de la siguiente manera (Charalampopoulus *et al.*, 2002):

- Como sustratos fermentables, para el crecimiento de microorganismos probióticos, especialmente lactobacilos y bifidobacterias.
- Como fibra dietética promoviendo varios beneficios fisiológicos.
- Como prebióticos específicos con respecto a su contenido de carbohidratos no digeribles.
- Como materiales para encapsulación de probióticos para aumentar su estabilidad.

2.3 FIBRA DIETÉTICA DE GRANOS DE CEREAL Y SUS EFECTOS TERAPÉUTICOS

La fibra dietética es la parte comestible de las plantas o carbohidratos análogos, los cuales resisten la hidrólisis enzimática del tracto gastrointestinal (Molina y Martín, 2007). La fibra dietética puede ser dividida en 2 categorías de acuerdo a su solubilidad en agua. Cada categoría proporciona diferentes efectos terapéuticos. La fibra hidrosoluble consiste principalmente en polisacáridos no almidonosos, β-glucanos y arabinoxilanos básicamente (Champ *et al.*, 2003). Dicha fibra forma una solución viscosa, lo cual retrasa el tránsito intestinal, el vaciamiento gástrico y reduce la absorción de glucosa y esterol en el intestino. Por ello la hipótesis de que la viscosidad que se produce hace que disminuya el colesterol sérico, glucosa postprandial, y contenido de insulina en el cuerpo humano (Wilson *et al.*, 2004). La

fibra no hidrosoluble contiene lignina, celulosa, hemicelulosa y polisacáridos no almidonosos tales como arabinoxilanos no hidrosolubles (Marlett, 1990), este tipo de fibra proporciona saciedad, lo que provoca una menor ingesta de alimentos, disminuye el tiempo de tránsito intestinal de los alimentos, ayuda a controlar el estreñimiento y aumenta la excreción. Entre los granos de cereales el contenido de fibra varía (Tabla 1) (Herrera *et al.*, 1998). Dentro de los componentes de los cereales, generalmente la mayoría de la fibra dietética va disminuyendo del pericarpio al endospermo, excepto los arabinoxilanos, los cuales son el mayor componente de las paredes del endospermo. La celulosa es el componente mayoritario de la cáscara, mientras los arabinoxilanos y β -glucanos son el componente mayoritario de la aleurona y paredes del endospermo respectivamente (Fastnaugh, 2001).

Tabla 1. Comparación de la fibra dietética total contenida en granos de cereales.

CEREALES	Fibra dietética total (% descascarillado)
Legumbres	13.6 - 28.9
Centeno	15.5
Maíz	15
Triticale	14.5
Avena	14
Trigo	12
Sorgo	10.7
Cebada	10
Mijo	6.2 - 7.2
Arroz	3

Fuente: Herrera et al., 1998.

2.4 β-GLUCANOS

Uno de los componentes más importantes de la fibra dietética son los β -glucanos que son polímeros lineales de glucosa. Estructuralmente éstos son cadenas lineales de β -D-glucopiranosil, en el cual aproximadamente el 70% de las unidades son uniones β -(1 \rightarrow 4), pero también consiste en β -D-celotriosil y residuos de β -D-celotetraosil separados por unidades de uniones β -(1 \rightarrow 3) arreglados al azar (Lifschitz *et al.*, 2002)

Figura 1. Representación esquemática de la estructura de β -glucanos de la cebada. G_3 y G_4 representan las posiciones en las cuales el residuo de glucosa es enlazado. Las flechas muestran la unión β -(1 \rightarrow 4), enlace donde actúa la enzima liquenasa (Åman y Graham, 1987).

Entre todos los granos de cereales, la cebada y avena contienen los más altos niveles de β -glucanos. Lambo *et al.* (2005) cuantificaron la fibra soluble por método de filtración de cebada y avena, encontrando valores similares de 18.6 g/100 g y 16.0 g/100 g en base seca respectivamente. Este se concentra usualmente en el interior de la pared celular del endospermo de cebada y avena.

Cantidades considerables de β -glucanos son también encontrados en el área del pliegue del trigo y otros granos. El trigo no es reconocido como una fuente de β -glucanos debido a su bajo contenido, menor al 1% en base seca. Sin embargo, las propiedades físicas del grano de trigo permite el desarrollo de la tecnología de perlado para separar la capa de la aleurona como fuente potencial de β -glucano (Kent, 1987).

El empleo de los β -glucanos en alimentos ha ido en aumento además de ser un gran beneficio y este se le a tribuye a las características fisicoquímicas y la capacidad de gelificación de los β -glucanos.

2.4.1 Obtención y extracción de β -glucanos

Los procedimientos para el aislamiento y purificación de la fibra dietética, y las técnicas involucradas en la cuantificación y análisis estructural, fueron desarrollados para el aislamiento de fibra dietética en etapas del proceso de molienda convencional. La combinación de la tecnología del descascarillado y perlado, así como el subsecuente proceso de molienda, han simplificado los esfuerzos produciendo tratamientos de descascarillado que permitan obtener componentes botánicos más específicos, tales como el exterior e interior del pericarpio, la cobertura del germen, las células de aleuronas, el embrión y el endospermo. El punto particular de la purificación de la fibra dietética está en función de cada uno de estos procesos, así como el conocimiento de la distribución de la fibra en cereales, esos procedimientos de aislamiento podrían ser simplificados empleando subproductos más puros (harina, salvado y sémola). El proceso de molienda para concentrar β-glucano de cebada y/o fibra entra dentro de 2 categorías: a) molienda convencional con tamizado y b) molienda por impacto o abrasión seguida por una clasificación de aire o tamizado (Fastnaugh, 2001).

Para la producción de aislados de β -glucanos de cebada, se han empleado combinaciones de disolventes, pH, temperatura y enzimas. Inicialmente, los procedimientos de purificación de β -glucanos dieron pauta al desarrollo de la investigación de peso molecular y solubilidad. Se ha reportado un incremento de solubilidad de β -glucanos del 86 % en agua caliente (arriba de 100°C) con o sin enzimas digestivas a concentraciones de 33.1-89.1% de β -glucanos (Saulnier *et al.*, 1994).

Temelli (1997) reportó que la solubilidad del β-glucanos y la viscosidad incrementaron mientras la temperatura aumentó hasta 55°C. La extracción a 4 diferentes temperaturas (40, 45, 50 y 55°C) y pH (7, 8, 9 y 10, usando carbonato de sodio) dieron una alta producción a pH 7 y 8, pero una alta viscosidad a pH 9, indicando la necesidad del balance entre la extracción y funcionalidad.

Burkus y Temelli (1999) reportaron que la estabilidad de la viscosidad es mejorada con el 70% de etanol para la purificación de β -glucanos. La extracción de β -glucanos es típicamente precipitada con alcohol, sin embargo se ha desarrollado un nuevo método de aislados de β -glucanos usando agua caliente seguido por congelamiento-descongelamiento de la extracción del precipitado de β -glucanos. La presencia de enzimas endógenas produjo una disminución del peso molecular de los β -glucanos a menos que la extracción se mantenga por un mínimo de tiempo (Wilson *et al.*, 2004).

2.4.2 Propiedades fisicoquímicas de β-glucano de cebada

Las propiedades físicas y químicas de la fibra de cebada dependen de los polisacáridos que la componen, particularmente los β -glucanos y arabinoxilano. Dos de estas propiedades son la solubilidad en agua y su alta viscosidad en solución, las cuales son influenciadas por la estructura química.

2.4.2.1 Viscosidad de β-glucano de cebada

El bajo peso molecular puede deberse a la actividad de la enzima β -glucanasa o a un daño mecánico durante la extracción. Las propiedades reológicas de aislados de β -glucanos han sido comparadas con otros componentes gomosos, encontrándose que son similares a la metilcelulosa. Schwarz y Lee (1995) obtuvieron un aislado al 90% de β -glucanos puro, el cual fue estable en viscosidad y presentó propiedades pseudoplásticas (disminución de la viscosidad de un fluido al aumentar la fuerza de corte). Ambos, viscosidad y pseudoplasticidad disminuyeron al aumentar la temperatura.

Los β -glucanos de alto peso molecular, cerca de 3 x 10⁶ Da, son viscosos debido a sus fuerzas de Van der Waals. Los β -glucanos de bajo peso molecular, tan bajo como 9 x 10³ Da, pueden formar geles suaves debido a que las cadenas largas de polímeros se asocian en una malla tridimensional que atrapan líquido. Cuando son expuestos a fuerzas físicas y químicas o hidrólisis enzimático, el tamaño de las moléculas de los β -glucanos se reduce hasta alcanzar el peso molecular de 0.4 – 2 x 10⁶ Da en preparaciones típicas de alimentos (Charalampopoulos, 2002).

2.4.2.2 Gelificación de β-glucano de cebada

La gelificación es una asociación o unión de cadenas largas de polímeros en forma tridimensional de cadena continua, las cuales atrapan e inmovilizan los líquidos para formar una estructura resistente al flujo a baja presión. Burkus y Temelli (1999) estudiaron los efectos de la concentración y la temperatura de hidratación en la gelificación de β -glucanos de cebada. Reportaron que en soluciones de β -glucano a concentraciones \geq 5%, la fuerza del gel no es proporcional a la concentración. Encontrando también que la temperatura de hidratación no influyó en la fuerza del gel, concluyendo que la fuerza de gelificación depende de la variedad de cebada y reportándose que los β -glucanos de cebada comerciales tuvieron una mayor fuerza de gelificación que el extracto de β -glucanos que ellos utilizaron a una concentración del 5%. Indicando que el gel producido con harina de maíz fue más suave que el gel de β -glucanos a una concentración del 6%, por lo que los β -glucanos de cebada pueden tener un alto potencial como agente gelificante.

2.4.3 Efectos fisiológicos

La combinación de fibra soluble e insoluble de cebada crea interacciones complejas, teniendo un efecto directo tanto en el sistema digestivo como inmune, y un efecto indirecto en la reducción de riesgos de enfermedades coronarias, diabetes y cáncer.

Tales efectos están aparentemente relacionados con la habilidad de formar soluciones altamente viscosas y a su solubilidad, las cuales están en función a su peso molecular (Fastnaugh, 2001; Symons y Brennan, 2004; Cargill, 2005).

Varias formas de β-glucanos son reconocidas por tener importantes efectos terapéuticos positivos en enfermedades coronarias, en la reducción del colesterol y reacción glucémica (Charalampopoulos, 2002).

2.4.3.1 Digestión

La fibra soluble de la cebada está asociada con el aumento de excreción de grasa y colesterol del sistema digestivo. Lia *et al.* (1995) reportaron un aumento del 55% en la excreción de colesterol consumiendo 13 g/día de β -glucanos en harina de cebada. También se reportó un incremento de la excreción de grasa fecal en un rango de 70-200% en hámster (Yokoyama, 2006), pollos (Wang, 1992) y ratas, consumiendo cantidades significativas de β -glucanos contenidos en productos de cebada. Otro de los beneficios al incluir β -glucanos de cebada es la pérdida de peso debido a la saciedad que producen, esto ha sido demostrado en experimentos clínicos hechos tanto en animales como en humanos (Baik y Ullrich, 2008).

2.4.3.2 Enfermedad cardiovascular

La reducción de colesterol ha sido observada en estudios que incluían fibra soluble (β -glucanos) e insoluble, indicando más de un mecanismo de disminución del colesterol. Definitivamente varios estudios han confirmado el papel de los β -glucanos de la fibra soluble en cebada como uno de los componentes reductores de colesterol (Inglett, 2001; Arndt, 2006; Pins y Kaur, 2006).

Wang *et al.* (1992) observaron que no hubo reducción de colesterol ni una baja viscosidad intestinal en pollos alimentados con cebada tratada con β-glucanasas.

Esto sostiene la hipótesis de que la viscosidad producida por β-glucanos reduce la absorción de lípidos y colesterol y la reabsorción de ácidos biliares.

2.4.3.3 Glucosa y resistencia a la insulina

La cebada tiene un bajo índice glucémico. Un bajo índice glucémico indica digestión y absorción lenta de carbohidratos, resultando una disminución de glucosa en sangre y respuesta a la insulina. El índice glucémico de la cebada perlada es de 31-48 IG (Lifschitz *et al.*, 2002; Yokoyama, 2006). Sin embargo, el índice glucémico está en función de la estructura, tipo de almidón, contenido de fibra y la interacción de estas características. Alimentos viscosos conteniendo β-glucanos de fibra soluble de avena y cebada pueden reducir glucosa y la resistencia de insulina en el torrente sanguíneo hasta un 50% comparado con pan blanco (Wursch y Pi-Sunyer, 1997).

2.4.3.4 Cáncer

El papel de la fibra de cebada en la reducción de riesgo de cáncer de colon no ha sido estudiado a profundidad. Una ingesta alta en fibra se asocia con un menor riesgo de cáncer colorrectal. Una de las hipótesis en el desarrollo de cáncer de colon y recto es que a partir de las excesivas cantidades de ácidos biliares en el intestino se forman algunas sustancias cancerígenas (Fastnaught, 2001). La fibra tiene un importante efecto benéfico porque reduce la secreción de ácidos biliares e incrementa su excreción en las heces. Por otra parte, la alta capacidad de retención de agua puede diluir la concentración de agentes cancerígenos y también adsorberlos en su superficie. La fibra reduce el tiempo de contacto de las sustancias cancerígenas con las paredes del intestino. Además, el ácido butírico formado por la fermentación puede inhibir la formación de tumores, que se ve potenciada por los bajos niveles de pH que resultan de la fermentación de la fibra en el colon (Molina y Martín, 2007).

2.4.3.5 Respuesta inmune

Las paredes de las células de muchas bacterias contienen hemicelulosa similar a la de β -glucanos encontrados en la cebada y avena, pero consta de uniones de β - $(1\rightarrow 3)$ de residuos de glucosil con pequeños números de uniones de β - $(1\rightarrow 6)$ en lugar de uniones β - $(1\rightarrow 4)$. Estos glucanos tienen la habilidad de aumentar la actividad del sistema inmune (Bohn y BeMiller, 1995), actuando como agentes antitumorales, antivirales, anticoagulantes y de cicatrización. Un leucocito receptor de membrana, el CR3, ha sido identificado como el sitio de unión que reconoce β -glucanos, incluyendo β -glucanos de cebada (Vetvicka *et al.*, 1996).

2.5 APLICACIONES DE β -GLUCANOS EN LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS

Los patrones de consumo de fibra dietética se están incrementando en la población, gracias al desarrollo de nuevos alimentos funcionales ricos en estos componentes de fibra, así como su conveniencia de consumo y su uso como aditivo en alimentos (Molina y Martín, 2007).

Por lo anterior, los β-glucanos pueden ser usados para mejorar el sabor, la textura, apariencia y composición nutricional de una variedad de productos, incluyendo los cereales para desayuno, galletas, panes, tortillas, barras de granola, barras de cereal con fruta, botanas y pastas. Adicionalmente, el alto contenido de fibra, disminuye los carbohidratos almidonosos y aumenta el contenido de proteína en mezclas de bebidas instantáneas, barras nutricionales, cápsulas, y obleas diseñadas para dieta y productos para perder peso, sustitutos de comida y suplementos de fibra (Arndt, 2006).

En Estados Unidos vendieron hojuelas de salvado de cebada las cuales contenían 7% de β-glucanos a razón de 2 g por oz (Batty and Rossnagel, 1998). Por otra parte Knuckles et al. (1997) hicieron una pasta con un contenido del 20% de fibra extraída

 $(7.1\% \text{ de } \beta\text{-glucanos})$ la cual tuvo en general una buena aceptabilidad e igual color que la durum.

2.6 LA CEBADA Y SU PRODUCCIÓN

La cebada es un grano de invierno, duro, resistente a la sequía, madura más rápidamente que el trigo, la avena o el centeno. La taxonomía de la cebada se muestra en la tabla 2 (SIIT, 2008).

Tabla 2. Taxonomía de la cebada.

Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
División	Magnoliophyta
Clase	Liliopsida
Subclase	Commelinidae
Orden	Cyperales
Familia	Poaceae
Genero	Hordeum
Especie	Hordeum vulgare

Fuente: SIIT, 2008. http://siit.conabio.gob.mx

2.6.1 Clasificación de la cebada

Se distinguen tres tipos principales de cebada: (a) vestida, de seis carreras; (b) vestida, de dos carreras; y (c) desnuda. Todos se han considerado como subgrupos de una especie, *Hordeum sativum* o *H. vulgare* (figura 2). En los tipos vestidos, la gluma o cáscara queda adherida al grano después de la trilla, mientras que en los tipos desnudos queda suelta y se elimina fácilmente después de la trilla. Dos o seis carreras hace referencia a la disposición de los granos en la espiga (Kent, 1987).

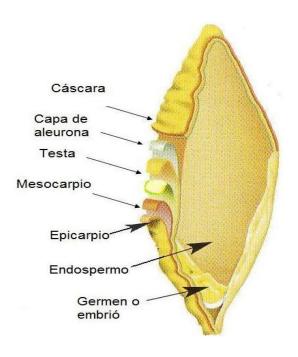


Figura 2. Cariópside de la cebada y sus estructuras. (Modificado de Pamplona, 2004).

2.6.2 Composición química de la cebada

El principal constituyente de los cereales es el almidón. El nitrógeno cuantificado generalmente por el método de Kjeldahl (el cual determina la materia nitrogenada total, que incluye tanto las no proteínas como las proteínas verdaderas), forma parte de las proteínas, que son el segundo constituyente más abundante del grano. El disolvente no polar está formado por aceite y otros compuestos liposolubles. Los lípidos en el grano se subdividen en polares y no polares y se localizan principalmente en el germen. La fracción denominada fibra cruda la constituyen aquellos carbohidratos estructurales que son insolubles. Las cenizas son todo aquel material inorgánico conformado por minerales, la mayoría de los minerales están asociados con el pericarpio y la capa de aleurona (Tabla 3) (Serna, 2001).

Tabla 3. Composición química de la cebada.

NUTRIENTE	CONTENIDO (%)
CARBOHIDRATOS	70-80
DE LOS CUALES:	
ALMIDÓN	50-63
AZÚCARES	1.8-2.0
CELULOSA Y HEMICELULOSAS (β-	15-20
GLUCANOS Y PENTOSANOS)	
PROTEÍNA	7.5-15.6
EXTRACTO ETÉREO	1.8-2.6
CENIZAS	2.6-3.1

Fuente: Callejo, 2002.

2.6.3 Producción de cebada

Después del maíz, el trigo y arroz, la cebada es el cultivo más importante a nivel mundial, pues representa el 7% del total de producción de granos. Su principal destino es la fabricación de cerveza, la alimentación del ganado, la industria panificadora, la producción de alcohol, como sustituto de café y la fabricación de azúcares (BANCOMEXT, 2007). Cabe señalar que en el ámbito internacional México tiene escasa participación por su baja producción. Las principales zonas que abastecen la cebada son: Hidalgo, Estado de México, Zacatecas, Puebla y Tlaxcala representando el 93% de la producción nacional, que fue de 548,369.89 Ton en el 2008 (SAGARPA, 2008), ciclo primavera-verano 2008, siendo Hidalgo el principal productor de cebada con 241,174.44 Ton, representando el 44%; cabe mencionar que su producción disminuyó con respecto al 2006 por siniestros (Figura 3). Pese a que el rendimiento por hectárea es el quinto mejor a nivel mundial en el mercado internacional la producción mexicana representa sólo 0.5%.

Anualmente, en México, principalmente el sector cervecero, demanda más de un millón de toneladas de cebada. Sin embargo, este año el suelo nacional producirá solamente 718,000 toneladas, el resto se traerá principalmente de Estados Unidos. La cebada producida en ambos estados es de la especie *Hordeum sativum jess* de seis hileras de grano (BANCOMEXT, 2007; López *et al.*, 2005; SAGARPA, 2008).

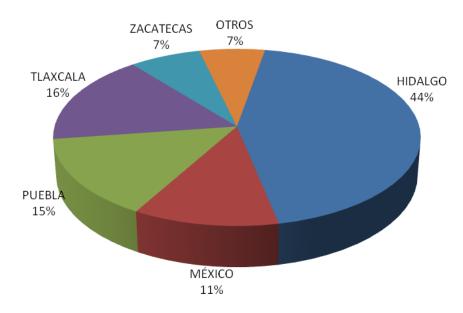


Figura 3. Producción de cebada por modalidad de Temporal en el 2008 en México (SAGARPA, 2008).

2.6.4 Molienda Seca de Cebada

Las semillas de los cereales protegen las sustancias de su interior por medio de una o más cáscaras. La molienda seca consiste en la separación física de las distintas partes anatómicas del grano, tiene como principal objetivo obtener el endospermo en forma entera, parcialmente quebrado o en harina. A los productos terminados de estos procesos se les considera como intermedios ya que son la principal materia prima utilizada en otras industrias alimentarias. Los granos decorticados como el arroz blanco-pulido y el sorgo perlado se utilizan en todo el mundo para la elaboración de alimentos tradicionales. Los gránulos grandes de maíz generalmente se utilizan para la producción de hojuelas de maíz, mientras que los gránulos de pequeño calibre como adjuntos cerveceros o para la elaboración de productos

extruidos, pastas y cereales de desayuno. Por último, pueden citarse las harinas finas que se emplean principalmente para la manufactura de diferentes productos de panadería. Indudablemente que la calidad de los productos resultantes de las industrias molineras está estrechamente vinculada con la calidad de productos terminados y los parámetros de proceso (Serna, 2001).

El grano de cebada cuando va a canalizarse para la alimentación humana pasa por un proceso de descascarado y perlado en un molino de piedras abrasivas. Generalmente para el proceso abrasivo cuando se ha removido aproximadamente 35% del peso del grano (glumas, pericarpio, germen y capas de aleurona), de tal manera que queda un producto refinado o perlado. En caso de que desee producir una harina refinada, se procede a molturar el grano perlado en una serie de estaciones de molinos de rodillo. La cebada preferida para procesos de perlado es la de color blanco, procedente de espigas de dos carrera, por su uniformidad y tamaño más grande (Serna, 2001).

2.6.4.1 Limpieza

Es una actividad cualitativa que se realiza en base a propiedades sensoriales de la cebada. La limpieza del grano consiste en eliminar toda sustancia ajena a la misma, así como granos dañados, vanos, inmaduros, chupas o verdes que pudiesen existir (NMX-FF-043-SCFI-2003). El proceso de limpieza se realiza en mesas cribadoras provistas con sistemas de aspiración de aire para remover residuos vegetativos, piedras y otros materiales de mayor tamaño que el grano. El sistema de aspiración de aire tiene la función de separar todas aquellas partículas que son más ligeras que el grano (granos vanos, glumas sueltas, material vegetativo). Posteriormente el grano parcialmente limpio se conduce a separadores de discos. El primer separador contiene discos con hendiduras para recoger, levantar y separar granos con las mismas dimensiones que el grano, discriminando residuos y semillas más grandes que este. El segundo tipo de separador es similar, pero contiene discos con hendiduras pequeñas de tal manera que están calibrados para remover semillas de

hierbas o granos más pequeños. Durante el ciclo de limpieza, el lote del grano se pasa a través de magnetos para remover metales ferrosos que pueden posteriormente dañar el equipo de molienda (Serna, 2001).

2.6.4.2 Humedad

En la mayoría de las industrias de alimentación, la humedad se suele determinar a diario. Los niveles máximos se señalan frecuentemente en las especificaciones comerciales. Existen para esto varias razones, principalmente las siguientes (Pearson, 1976; Callejo, 2002):

- El comprador de materias primas no desea comprar agua en exceso.
- El agua, si está presente por encima de los ciertos niveles, facilita el desarrollo de microorganismos.
- Los materiales purulentos se aglomeran en presencia de agua.
- La humedad de los cereales se debe ajustar adecuadamente para facilitar la molienda.
- La cantidad de agua presente puede afectar la textura.
- La determinación del contenido en agua representa una vía sencilla para el control de la concentración de agua en las distintas etapas de la fabricación de alimentos.

A veces, es difícil la determinación exacta del contenido total de agua. En la práctica es suficientemente apropiado cualquier método que proporcione una buena repetitividad con resultados comparables, siempre que ese mismo procedimiento se siga estrictamente en cada ocasión.

2.6.4.3 Descascarillado o Decorticado

La operación de descascarillado y/o decorticado se aplica generalmente al arroz la avena, la cebada, el sorgo y los mijos. El objetivo del proceso es remover gradual y

eficientemente el pericarpio o germen para producir un grano más atractivo y con menor cantidad de fibra y aceite. El método más simple consiste en remover la envoltura y germen del grano en un mortero de madera. El proceso se hace más eficiente con máquinas de lotes o continuas que contienen un sistema de discos abrasivos, rodillos o cilindros. El propósito de la operación es obtener el máximo porcentaje de granos íntegros o no quebrados que cumplan con las especificaciones de color, cantidad de cenizas, fibra y aceite (Serna, 2001).

3. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

Hasta el momento se han reportado los efectos benéficos en la salud por parte de la fibra dietética y específicamente de los β -glucanos de avena, estas propiedades benéficas conducen a una demanda para la incorporación de β -glucanos en varios sistemas de alimentos. Se han reportado estudios de extracción y caracterización de β -glucanos de cebada, sin embargo, aún no se han realizado en variedades de cebada mexicanas, ni tampoco se ha trabajado con su aplicación.

Para ello, se propone realizar este estudio de extracción y caracterización de β -glucanos de variedades de cebada de la región centro del país. Con el desarrollo de este estudio se podrá evaluar condiciones de extracción, cuantificación de los β -glucanos, determinar la composición química de los extractos, y finalmente evaluar sus propiedades funcionales, que como ya se ha mencionado, los beneficios que ofrecen al organismo son considerables. Lo que se espera obtener son β -glucanos con un porcentaje de extracción y características fisicoquímicas equivalentes o superiores a los reportados.

4. JUSTIFICACIÓN

Si bien es sabido que la producción de cebada en México es muy importante, sobre todo en los estados del centro del país (Hidalgo, Tlaxcala, Puebla y edo. de México), sin embrago su aplicación en la industria alimentaria humana es baja. La cebada es una fuente rica en β -glucanos, siendo estos un componente que tiene una importante función en el organismo, aportándole grandes beneficios en la prevención y tratamiento de enfermedades.

Llevar a cabo este estudio en variedades de cebada de la región centro país servirá para determinar las propiedades fisicoquímicas de los β-glucanos, permitiendo su utilización como aditivo en el diseño de alimentos funcionales y como nutracéuticos. Así mismo se incentivará la producción de cebada, además de diversificar su uso en la producción de alimentos de consumo humano, dándole un valor agregado a dicho cereal.

5. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL

Extraer y caracterizar los β -glucanos de variedades de cebada de la región centro país (Hidalgo y Puebla).

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1.- Cuantificar β -glucanos de las diferentes variedades de cebada (3 del estado de Hidalgo y 3 del estado de puebla).
- 2.- Extraer β -glucanos mediante diferentes combinaciones de temperatura y pH de la variedad con mayor contenido de β -glucano.
- 3.- Caracterizar fisicoquímicamente los β -glucanos de la variedad de cebada seleccionada.

6. METODOLOGÍA

6.1 ARREGLO EXPERIMENTAL

Las muestras de cebada fueron proporcionadas por los productores de los estados centro país (Hidalgo y Puebla: Gaviota, Esmeralda y Adabella) y se trataron de la siguiente manera: una muestra de 100 g de cada una se sometió al proceso de molturación para obtener harina integral, a las cuales se les realizó una prueba de cuantificación de β -glucanos por el método de McCleary (Paquete enzimático Megazyme AOAC 995.16) para determinar cuál de ellas presentaba la mayor concentración de β -glucanos. Una vez seleccionado el grano con mayor % de β -glucanos (Gaviota Libres Puebla) se procedió a limpiar (NMX-FF-043-SCFI-2003) y someter a molturación para la obtención de harina integral.

A partir de la harina integral se realizó la extracción evaluando combinaciones de pH (7, 8, 9 y 10) y temperatura $(40, 45 y 50^{\circ}\text{C})$ (método de Temelli, 1997) y cuantificación de β -glucanos (Paquete enzimático Megazyme AOAC 995.16). Una vez obtenido el extracto de β -glucanos, se le determinó su composición química y se caracterizaron sus propiedades funcionales evaluando viscosidad, capacidad de emulsión, capacidad y estabilidad de espuma, retención de agua y gelificación (Ver Figura 4).

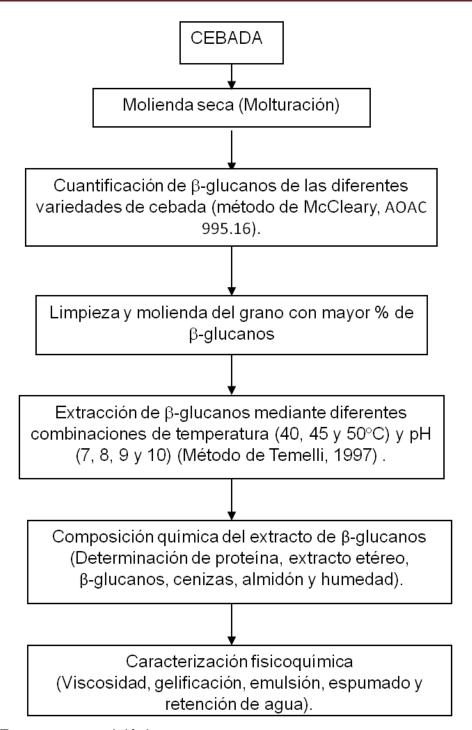


Figura 4. Esquema metodológico.

6.2 OBTENCIÓN DEL GRANO

Las diferentes variedades de cebada fueron proporcionadas por los estados de Hidalgo y Puebla que forman parte del Sistema Producto Cebada de la Región Centro País, del periodo primavera-invierno del 2008.

Tabla 4. Variedad y estado productor de cebada estudiada.

ESTADO PRODUCTOR	VARIEDAD Y LOCALIDAD
Hidalgo	Adabella (Coatlalco)
	Gaviota (El Llano Almoloya)
	Esmeralda (Apan)
Puebla	Adabella (Libres)
	Gaviota (Libres)
	Esmeralda (Libres)

6.3 OBTENCIÓN DE HARINA INTEGRAL

A las variedades listadas anteriormente se les sometió a un proceso de molienda para obtener harina integral como se describe a continuación:

El grano de cebada se sometió a una selección y limpieza en agitador Baldor (Electric Industrial Motor, EU) durante 5 min, con ello se eliminaron las impurezas presentes en la cebada y granos dañados (quemados, quebrados o picados) (Callejo, 2002). Posteriormente se realizó una selección manual para eliminar restos de impurezas y granos quebrados, y solo obteniendo granos de tamaño uniforme, esta actividad se realizó hasta obtener 100 g de cebada. Una vez obtenida la cebada limpia se acondicionó para poder realizar la molienda. Se dejó en remojo el grano en agua destilada por 12 hrs en un recipiente hermético. La cantidad de agua adicionada al grano fue con el objetivo de obtener una humedad del 17 %, permitiendo un adecuado descascarillado, se calculó en relación al porcentaje de humedad de grano al inicio empleado la fórmula Ec. 1. Una vez descascarillados los

granos de cebada se procedió a la molienda seca en un molino de laboratorio (Modelo DC1, CHOPIN, Francia), obteniendo harina, sémola y salvado.

$$A = \frac{H_1 \cdot W_1}{H_2} - H_3$$
 (Ec. 1)

Donde:

A = Cantidad de agua a adicionar.

 H_1 = Humedad que se desea alcanzar.

 H_2 = Humedad del grano.

 H_3 = Diferencia de humedad.

 W_1 = Peso de muestra seca.

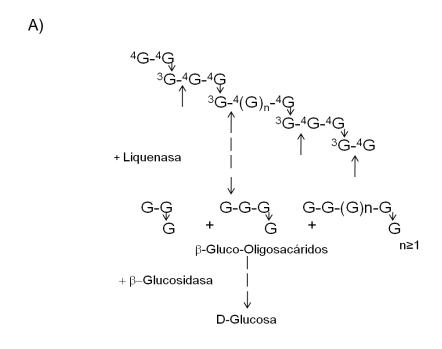
6.4 CUANTIFICACIÓN DE β-GLUCANOS

Una vez que ya se obtuvo la harina integral de las diferentes variedades se les sometió a una cuantificación de β -glucanos con el objeto de determinar la variedad con mayor concentración de β -glucanos, esta técnica se describe a continuación.

La cuantificación de los β -glucanos se realizó mediante un paquete enzimático comercial Megazyme por el método de McCleary (Megazyme International, AOAC 995.16, Wicklow Ireland), que consta de dos fases, la primera es un método enzimático usando liquenasa y β -glucosidasa. Los β -glucanos son hidrolizados específicamente en β -gluco-oligosacáridos por la liquinasa y completando la hidrólisis a glucosa por β -glucosidasa. En la segunda fase la glucosa es cuantificada por una mezcla amortiguada de glucosa oxidasa-peroxidasa (Figura 5).

Dicho método consistió en pesar las muestras de harina (extracto de β-glucano) de cebada (80-120 mg), de contenido de humedad conocida en tubos de polipropileno para centrifuga. Se aseguró que todas las muestras bajaran al fondo. Se humedecieron las muestras con una alícuota de 0.2 mL de etanol (50% v/v) para facilitar la dispersión. Se añadió 4.0 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.). Los tubos se incubaron inmediatamente en un baño de calentamiento (Modelo 1225, Sheldon Manufacturing, Inc. EU) por 60 seg a ebullición. Se agitaron vigorosamente en el vortex e incubaron por un periodo de 2 min, nuevamente se agitaron e incubaron a 50°C por 5 min. Posteriormente se añadió liquenasa (0.2 mL, 10 U) y se agitó el contenido del tubo. Se sellaron los tubos con sus tapas e incubaron por 1 h a 50°C, con agitación vigorosa y regular (por ej. 3 - 4 veces) en un vortex.



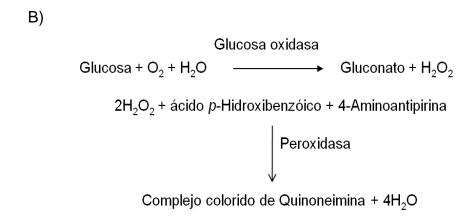


Figura 5. A) Reacción de la enzima liquenasa y β-Glucosidasa, B) Reacción de la enzima glucosa oxidasa-peroxidasa (AOAC 995.16).

Después de ello se añadió el amortiguador de acetato de sodio (5.0 mL, 200 mM, pH 4.0) y mezclaron vigorosamente los tubos en el vortex. En seguida, los tubos se equilibraron a temperatura ambiente (5 min), y centrifugaron (1,000 x g, 10 min) (Modelo V6500, Hamillton Bell Co. Inc. N.Y.), posteriormente se transfirió cuidadosamente y con precisión una alícuota de 0.1 mL de cada filtrado al fondo de tres tubos de ensayo (12 mL), se le añadió una alícuota de 0.1 mL de amortiguador de acetato de sodio (50 mM, pH 4.0) a uno de estos (el blanco), mientras a los otros dos (la reacción) se añadió β-glucosidasa (0.1 mL, 0.2 U) y se incubaron los tubos a 50°C por 10 min. Por último se añadió el reactivo GOPOD (3.0 mL) a cada tubo y se incubaron a 50°C por 20 min. Finalmente se midió la absorbencia a 510 nm en un espectrofotómetro (Modelo 6405, Barloworld Scientific Ltd, EU) y se realizaron los cálculos de cuantificación (Ec. 2).

$$\% \beta - \text{glucanos} = \Delta A \times \frac{F}{W} \times 27$$
 (Ec. 2)

Donde:

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

F = Factor de conversión de los valores de absorbencia a μ g de glucosa (AOAC 995.16).

W = Cálculo del peso seco de las muestras analizadas en mg.

27 = Factor de conversión de D-glucosa libre a anhidro-D-glucosa, como ocurre en los β-glucanos (AOAC 995.16).

Con estos cálculos se pudo determinar la variedad que obtuvo el mayor porcentaje de β-glucanos y así proceder a la limpieza y molienda del grano.

6.5 LIMPIEZA DEL GRANO

Para la limpieza del grano se empleó la norma NMX-FF-043-SCFI-2003, en dicho documento se establecen los parámetros y especificaciones que debe cumplir la cebada maltera para ser objeto de comercialización (Tabla 5).

Tabla 5. Parámetros y especificaciones que debe cumplir la cebada maltera.

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

Fuente: Norma NMX-FF-043-SCFI-2003.

Con respecto a la tabla anterior los parámetros que se le evaluaron a la cebada fueron: humedad, granos desnudos y/o quebrados, impurezas y grano dañado. Los cuales se describen a continuación.

6.5.1 Humedad

Para la determinación de humedad de las muestras de cebada, se realizó por el método de la AOAC 925.10 (1999) el cual consistió en pesar 1 g de muestra en cápsulas de aluminio previamente taradas y sometiéndose a sequedad en una estufa (Modelo AS2035, Scorpion Scientific, EU) a 105°C ± 3°C por 4 horas. Posteriormente se enfrió en desecador y se peso. El cálculo se realizó por diferencia de peso con respecto al peso inicial (Ec. 3).

$$\% H = \frac{W_1 - W_2}{W_1} x 100$$
 (Ec. 3)

Donde:

%H = % de humedad.

 W_1 = Peso de muestra húmeda (g).

 W_2 = Peso de muestra seca (g).

6.5.2 Granos desnudos y/o quebrados

Para este análisis se pesaron 25 g de grano de cebada limpio. Se procedió a separar los granos desnudos y los quebrados, se pesaron en conjunto los granos desnudos y los quebrados.

6.5.3 Impurezas

Se tomó una porción de la muestra original de 100 g y se depositaron sobre una criba de 1,79 x 13 mm (4,5/64" x 1/2") de orificios, la que se colocó sobre una charola de fondo liso. Se cribó el grano y se separaron con la mano las impurezas que quedaron sobre la criba, ejemplo otros granos que no eran cebada, paja, terrones, insectos muertos etc. Una vez que se terminó de cribar el grano, las impurezas y el grano delgado de cebada que pasaron la criba se separaron con la mano y, solamente, las impurezas que pasaron la criba se juntaron con las impurezas grandes que se separaron con la mano quedando este grano de cebada libre de todos los materiales extraños (impurezas).

6.5.4 Grano dañado

Para este análisis se pesaron 25 g de grano de cebada limpio. Se procedió a separar los granos que presenten daños, cuantificando los granos dañados por calor, agentes meteorológicos, hongos, germinados e inmaduros, insectos y roedores.

6.6 OBTENCIÓN DE HARINA INTEGRAL

Como se mencionó anteriormente, primero se determinó la variedad con mayor % de β-glucanos para así proceder a una limpieza y molienda del grano a mayor volumen, este proceso es similar al descrito en párrafos anteriores (apartado 6.3).

6.7 EXTRACCIÓN DE β-GLUCANOS

La extracción de β -glucanos se realizó utilizando el procedimiento de Temelli (1997) con algunas modificaciones, el cual consiste en suspender la harina en agua ajustando a diferentes pH (7, 8, 9 y 10) con Na₂CO₃ (20% p/v), se sometió a agitación a diferentes temperaturas (40, 45 y 50°C) en un baño con agitación horizontal (Modelo A12050, Scorpion Scientific, EU). La mezcla se centrifugó (Modelo 369434, Beckman Coulter, Inc. Germany) para remover los sólidos (15,000 x g, 15 min), al sobrenadante se le ajustó el pH a 4.5 con HCl 2 M para ser centrifugado a 15, 000 x g por 40 min) y así separar las proteínas precipitadas, y del sobrenadante se obtuvieron los β -glucanos por precipitación con etanol (99.9%). El precipitado se recuperó por centrifugación a 5,000 x g por 10 min y se dejó en reposo toda la noche. Posteriormente se les hizo un lavado con etanol (50 mL) y otro con éter de petróleo (30 mL) para eliminar el exceso de grasa, se filtró en crisoles Gooch No. 2 (4.5 – 5 μm, cap. 30 mL), y secó al aire previo a determinar el peso. Se determinó el porcentaje de extracción Ec.4.

% extracción =
$$\frac{A}{B} \times 100$$
 (Ec. 4)

Donde:

A = g de extracto de β -glucanos por cada 100g de harina integral.

B = g de β -glucanos en harina integral.

6.8 COMPOSICIÓN QUÍMICA

6.8.1 Determinación de humedad

Para la determinación de humedad se pesaron 0.5 g de extracto de β -glucanos por triplicado en cápsulas de aluminio previamente taradas y sometiéndose a sequedad en una estufa (Modelo AS2035, Scorpion Scientific, EU) a 105°C \pm 3°C por 1 hr.

Posteriormente se enfrió en desecador y se pesó. El cálculo se realizó por diferencia de peso con respecto al peso inicial (Ec. 5).

$$\% H = \frac{W_1 - W_2}{W_1} x 100$$
 (Ec. 5)

Donde:

%H = % de agua del extracto.

 W_1 = Peso de muestra húmeda (g).

 W_2 = Peso de muestra seca (g).

6.8.2 Determinación de cenizas.

Para la determinación de humedad se pesaron 0.5 g de extracto de β-glucanos por triplicado en crisoles de cerámica previamente tarados y sometiéndose a sequedad en una estufa (Modelo AS2035, Scorpion Scientific, EU) a 105°C ± 3°C por 1 hr. Posteriormente las muestras se carbonizaron a flama directa hasta que ya no hubo desprendimiento de humo, después de haber terminado se incineraron en una mufla (Modelo FD1535M, Barnstead/Thermolyne, EU) durante 5 hrs a 525°C, transcurrido este tiempo se dejaron enfriar y se pesaron las cenizas. El porcentaje de cenizas se reportó como la diferencia de peso con respecto al peso inicial (Ec. 6).

%
$$C = \frac{P_F}{P_I} \times 100$$
 (Ec. 6)

Donde:

%C = % de cenizas.

 P_{l} = Peso inicial de la muestra.

 P_F = Peso final de la muestra (cenizas).

6.8.3 Determinación de proteínas

Se determinó porcentaje de proteínas por el método de Kjeldahl (Pearson, 1976), el cual sirve para determinar el contenido de nitrógeno de muestras orgánicas e inorgánicas. Se basa en la digestión de la muestra en ácido sulfúrico concentrado a ebullición, con la adición de un catalizador. La muestra se digiere hasta disolución y oxidación. El nitrógeno contenido en la muestra se convierte en sulfato de amonio. Añadiendo un exceso de solución de hidróxido de sodio, el ión amonio es liberado en forma de amoniaco, destilado y recogido sobre una solución de ácido bórico o sobre una solución valorada de ácido sulfúrico (Figura 6).

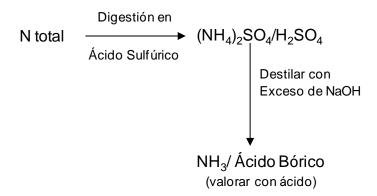


Figura 6. Reacción para la determinación de nitrógeno total por el método de Kjeldahl (Pearson, 1976).

Para esta determinación se pesaron 0.5 g de extracto de β-glucanos. Se realizó por triplicado. Después de haber pesado la muestra, se le agregó una tableta catalítica (Kjeltabs, Gerhardt, Apparate GmbH & Co. Königswinter, Alemania) a cada una de las muestras, posteriormente se le adicionaron 2 mL de agua destilada, seguido de una adición de 15 mL de ácido sulfúrico, después se sometieron a un proceso de digestión en un digestor (Modelo TR, Kjeldatherm, Gerhardt GmbH & Co., Königswinter, Alemania) en escalas de tiempo (230°C por 30 min, 260°C por 5 min, 300°C por 10 min, 400°C por 20 min, 405°C hasta obtener un color verde esmeralda), enseguida las muestras se destilaron en un equipo de destilación Vapodest (Modelo VAP 50, Gerhardt GmbH & Co., Königswinter Alemania) el cual adiciona hidróxido de sodio con lo cual el sulfato de amonio se descompone en

hidróxido de amonio que desprendió como destilado y por último las muestras fueron tituladas con ácido bórico y se valoraron directamente. El porcentaje de proteínas por diferencia de peso con respecto al peso inicial (Ec. 7).

% Proteína =
$$N(\%) \times 6.25$$
 (Ec. 7)

Donde:

6.25 = Factor de conversión de Proteínas de β-Glucanos (Lambo et al., 2005).

6.8.4 Extracción de grasas

Para la extracción del extracto etéreo se pesaron 0.5 g de extracto de β-glucano por triplicado en cartuchos de celulosa previamente secados y tarados, se introdujeron en un extractor tipo Soxhlet. Para la extracción se utilizó éter de petróleo (300 mL), la etapa de reflujo duró 2.5 hrs y posteriormente se dejaron escurrir para eliminar el exceso de solvente para después ser sometidas a secado (40°C) durante toda la noche en una estufa (Modelo AS2035, Scorpion Scientific, EU). El porcentaje de extracto etéreo se determinó por diferencia de peso con respecto al peso inicial (Ec. 8).

%
$$EE = \frac{P_I - P_F}{P_I} \times 100$$
 (Ec. 8)

Donde:

% EE = % del extracto etéreo.

 P_1 = Peso inicial de la muestra.

 P_F = Peso final de la muestra.

6.8.5 Determinación de almidón total

La determinación de almidón se realizó mediante un paquete enzimático comercial (Sigma Aldrich, St. Louis MO, EU) el cual consta de tres fases: a) Lavados para

eliminar exceso de glucosa y maltodextrina existente, b) Digestión de almidón y c) Determinación de glucosa.

Se pesaron 100 mg de extracto de β-glucanos por triplicado en tubos graduados de 17 mL, posteriormente se les hicieron unos lavados con etanol (80% v/v) para eliminar la glucosa y maltodextrina que contenían. Así se procedió a la digestión de almidón, a dichas muestras se le adicionó 0.2 mL de etanol, además se hizo un blanco que consta de 1.0 mL de agua, éstas se mezclaron y se les agregó 3 mL de agua y 0.02 mL de α-amilasa a cada muestra junto con el blanco. Se mezclaron e incubaron (5 min a ebullición), los tubos fueron extraídos del baño y enfriados a temperatura ambiente, el volumen fue llevado a 10 mL con agua y se mezclaron. A cada 1.0 mL de cada muestra del volumen anterior se le adicionó 1.0 mL del reactivo de determinación de almidón, se mezclaron e incubaron (15 min, 60°C) en un baño con agitación (Modelo A12050, Scorpion Scientific, EU), los tubos se sacaron y fueron enfriados a temperatura ambiente. Finalmente se diluyó 1.0 mL de cada muestra y blanco a 10 mL con agua y se procedió a la determinación de glucosa.

Para la determinación de glucosa se prepararon las siguientes soluciones dentro de tubos previamente etiquetados:

Reactivo	Blanco estándar	Estándar	Reactivo blanco	Muestra (por triplicado)
Agua (mL)	1.0	0.950		
Glucosa estándar (mL)		0.05		
Blanco de digestión de almidón			1.0	
Muestra de digestión de almidón				1.0

Comienza la reacción a tiempo cero agregando 2 mL del reactivo de determinación de glucosa al primer tubo y se mezcla. Se dejaron intervalos de 30-60 seg entre la adición del reactivo para cada tubo subsecuente. Se incubaron por 30 min a 37°C, para detener la reacción se les agregaron 2 mL de ácido sulfúrico 12 N con intervalos de 30-60 seg entre cada adición, con mucho cuidado se mezclaron los tubos

completamente, y finalmente se procedió a medir la absorbencia de cada muestra 540 nm en un espectrofotómetro (Modelo 6405, Barloworld Scientific Ltd, EU).

6.9 CARACTERIZACIÓN DE PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS

Se realizó la caracterización de propiedades funcionales del extracto de β-glucanos, la cual consistió en la determinación de la viscosidad, capacidad de gelificación, capacidad de emulsión, capacidad y estabilidad de espumado y por último la capacidad de retención de agua, las cuales se describen a continuación.

6.9.1 Viscosidad

Para la determinación de viscosidad se utilizó el método de Temelli (1997). Se prepararon dispersiones de extracto de β -glucanos en agua al 1% (p/v) por mezclas de calentamiento hasta ebullir durante 5 min, seguido por una agitación continua durante 2 hrs sin calentamiento. Seguido del ajuste del pH a 6.5 usando una solución de NaOH al 4%, esto permitió completar la hidratación del extracto sin que se hinchara. La viscosidad de la dispersión de los β -glucanos se determinó usando un viscosímetro rotacional Brookfield (Modelo DV-E, Brookfield Ingineering Laboratories, Inc. EU) con una aguja del No. 64.

6.9.2 Gelificación

Se evaluó la capacidad de gelificación mediante el procedimiento descrito por Burkus y Temelli (1999) con algunas modificaciones, el cual consiste en la dispersión del β-glucanos a diferentes concentraciones en agua destilada (5, 5.5 y 6% p/p) y posterior gelificación por tratamiento térmico (30 min a ebullición) para una completa hidratación y por último un baño con agua fría (4°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).

6.9.3 Emulsión

La capacidad de la emulsión se determinó por el procedimiento de Temelli (1997) donde el extracto de β-glucanos (0.01, 0.02 y 0.03 g) es sumergido en 40 mL de agua. Se le fue agregando 60 mL aceite vegetal comestible (Aceite 1-2-3, La Corona S.A DE C.V., México) lentamente y se mezclaron por 2 min utilizando el homogeneizador a 17,400 rpm (Modelo DI 1B, Yellow Line, Laboratory Equipment, IKA) a temperatura ambiente (~21°C). Alícuotas de 33.3 mL de la emulsión se transfirieron a tubos graduados de 50 mL y se centrifugaron (Modelo Z36K, Hermle Labortechnik, Alemania) por 15 min a 2,700 x g. La capacidad de la emulsión se reportó como el porcentaje del volumen de aceite emulsionado después de la centrifugación con respecto al volumen inicial (Ec. 9).

$$\%C_E = \frac{V_I - V_F}{V_I} \times 100$$
 (Ec. 9)

Donde:

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

 V_I = Volumen inicial del aceite antes de la emulsión.

 V_F = Volumen final del aceite después de la emulsión.

6.9.4 Espumado

La capacidad y la estabilidad de la espuma se midieron de acuerdo a Temelli (1997) por dispersión de 2, 2.5 y 3% (p/v) de extracto de β-glucanos en 100 mL de agua, batiendo por 2 min usando un mezclador de alimentos portátil (Modelo M16, Hamilton Beach/Proctor Silex, Inc. China) de alta velocidad (350 rpm) en una palangana de acero limpio, con lados rectos y midiendo volúmenes antes y después del batido. El

batido se reportó como un aumento del porcentaje de volumen. La espuma fue lentamente transferida a un probeta de 1 L y se dejó reposar a temperatura ambiente (~21°C) por 2 hrs. La capacidad de espuma se reportó como los mL de espuma producida después del batido. El porcentaje del volumen de la espuma después de 2 hrs con respecto al volumen original, se reportó como estabilidad de la espuma (Ec. 10).

$$\%E_e = \frac{V_F}{V_I} \times 100$$
 (Ec. 10)

Donde:

 $%E_{\rm e}$ = % de la estabilidad de espuma.

 V_I = Volumen inicial de la espuma.

 V_F = Volumen final de la espuma.

6.9.5 Capacidad de retención de agua

La capacidad de retención de agua (CRA) se determinó de acuerdo al procedimiento de Symons y Brennan (2004). Cada fracción de extracto de β-glucanos (1 g) se hidrató con 30 mL de agua destilada a temperatura ambiente. Después de la hidratación, las muestras fueron centrifugadas 3,000 x g por 20 min (Modelo 369434, Beckman Coulter, Inc. Germany). El sobrenadante se decantó y la muestra fue llevada a sequedad en una estufa (Modelo AS2035, Scorpion Scientific, EU). La CRA se reportó como cantidad de agua retenida por el pellet por g de peso seco (Ec. 11).

$$CRA = \frac{Ar}{W_I} \times 100$$
 (Ec. 11)

Donde:

CRA = Capacidad de retención de agua en g.

 W_l = Peso de la muestra seca.

 A_r = g de agua retenida con respecto al peso inicial.

6.10 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE RESULTADOS

Para la extracción, cuantificación y caracterización de β -glucanos las determinaciones se realizaron por triplicado. Para el análisis de resultados se realizaron análisis de varianza (ANOVA) y comparación de medias usando la prueba Duncan, para este análisis se utilizó el programa estadístico SPSS versión 15.0, para determinar diferencias entre los tratamientos de extracción, así como sus propiedades fisicoquímicas de los diferentes extractos de β -glucanos. La significancia fue definida como P < 0.05.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 CUANTIFICACIÓN DE β-GLUCANOS Y DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD

De las variedades de cebada proporcionadas por los estados de Hidalgo y Puebla se tomaron muestras de 100 g para someterlas a una molienda seca y obtener harina integral, a las cuales se les hizo una cuantificación de β-glucanos para determinar la variedad con mayor porcentaje de β-glucanos. Para dicha cuantificación fue necesario determinar su contenido de humedad (Tabla 6) encontrando que la variedad Gaviota Libres Puebla es la que contiene el mayor porcentaje de humedad, seguida de las variedades Esmeralda Libres Pue. y Adabella Coatlalco Hgo. (14.3, 12.3 y 12.3% respectivamente). Cabe mencionar que el contenido de humedad (además de impurezas, granos dañados, granos desnudos y/o quebrados) es una de las especificaciones para determinar si la variedad es maltera o no maltera (NMX-FF-043-SCFI-2003), así mismo la diversidad genética proporciona una amplia oportunidad para identificar las variedades de cebada cervecera y para usos específicos (Baik y Ullrich, 2008).

Tabla 6. Porcentaje de humedad de las distintas variedades de cebada de los estados de Hidalgo y Puebla.

VARIEDAD	% DE HUMEDAD
Adabella Libres Pue.	8.33 ± 0.0838^{d}
Gaviota Libres Pue.	14.38 ± 0.0294ª
Esmeralda Libres Pue.	12.30 ± 0.0170 ^b
Adabella Coatlalco Hgo.	12.33 ± 0.0776 ^b
Esmeralda Apan Hgo.	9.24 ± 0.0787 ^d
Gaviota El Llano Almoloya Hgo.	10.68 ± 0.0216 ^c

La cebada es uno de los granos de cereal con mayor diversidad genética. Las diferentes clases de cebada con frecuencia difieren ampliamente con respecto a sus características físicas y de composición, por lo tanto tienen diferentes propiedades (Baik y Ullrich, 2008).

Con respecto a la cuantificación de β -glucanos, se encontró que la variedad Gaviota Libres Puebla presentó el mayor contenido de β -glucanos (3.06 % \pm 0.02) en el grano entero, siendo éste estadísticamente diferente a las demás variedades (Figura 7).

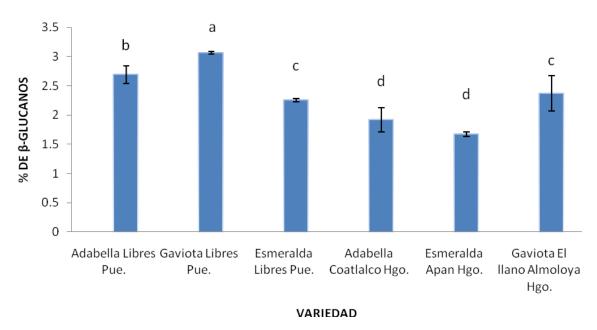


Figura 7. Porcentaje de β-glucanos en el grano entero de las distintas variedades del estado de Hidalgo y Puebla ($P \le 0.05$).

El contenido de β -glucanos, en el grano de cebada, está determinado principalmente por factores genéticos y en menor medida por factores ambientales durante la cosecha del grano (Äman y Graham, 1987; Fastnaught, 2001; Fox *et al.* 2007b; Baik y Ullrich, 2008). Fastnaught *et al.* (1996), también notaron un efecto significativo entre el genotipo y la ubicación del contenido de β -glucanos en el grano de cebada, así mismo estimaron que el contenido de β -glucanos es controlado por dos o tres genes dominantes (tres sitios de características cuantitativas por sus siglas en inglés QTLs, uno en el cromosoma 1H y dos en el cromosoma 2H). Independientemente de

estos factores, hay dos características consideradas parte del genotipo interno del cultivo, que son el volumen de las paredes de las células y la actividad de la β -glucanasa (Fastnaught, 2001).

Por lo anterior, se puede entender del por qué de las diferentes concentraciones de β-glucanos en las distintas variedades de una misma región.

Una vez que se determinó la variedad con mayor concentración de β-glucanos, se procedió a obtener un mayor volumen de harina integral por molienda seca, previo una evaluación de sus parámetros y especificaciones según la norma NMX-FF-043-SCFI-2003, obteniendo los siguientes valores (Tabla 7).

Tabla 7. Parámetros y especificaciones de la variedad Gaviota Libres Puebla.

PARÁMETROS Y ESPECIFICACIONES	%
Humedad	14.3
Granos danados, desnudos y quebrados	11.2
Impurezas	2.4

Como se mencionó anteriormente, existen parámetros y especificaciones para determinar si la variedad de cebada es maltera y no maltera, pues con estos resultados se podria decir que la variedad Gaviota Libres Puebla no es maltera, puesto que no cumple con los parámetros establecidos por la NMX-FF-043-SCFI-2003 (humedad, granos dañados, desnudos y/o quebrados e impurezas), sin embargo, es importante mencionar que las variedades proporcionadas, por los productores, no fueron sometidas a un proceso de limpieza previo.

7.2 EXTRACCIÓN DE β-GLUCANOS

Una vez determinado la variedad con mayor contenido de β-glucanos se realizaron extracciones con diferentes combinaciones de pH y temperatura (Figura 8), así como la cuantificación de β-glucanos (Figura 9), la combinación del tratamiento pH 9/50°C

presentó una diferencia significativa ya que obtuvo el mayor porcentaje de extracción y de pureza evaluados entre todos los tratamientos y los tratamientos a una sola temperatura, seguido de pH 9/45°C y pH 8/45°C (66.64, 62.30 y 57.70%, respectivamente) y la combinación con menor porentaje de extracción fue a pH 7/40°C (9.64%) y el extracto con menor pureza de β-glucanos fue a la combinación pH 7/50°C (29.95%) seguida por los extracto a las combinaciones pH 7/40 y 45°C (32.48 y 35.93%, respectivamente) (p<0.05).

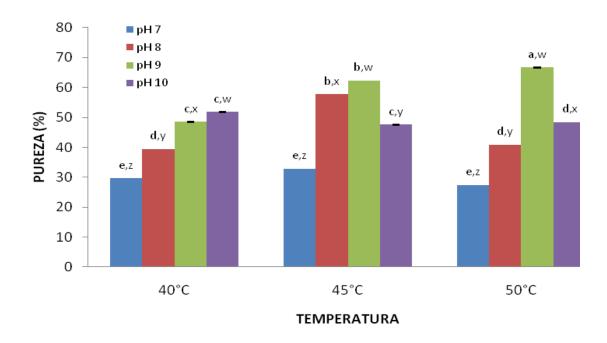


Figura 8. Porcentaje de extracción de β-glucanos de la variedad Gaviota Libres Pue. en diferentes combinaciones de pH (7, 8, 9 y 10) y temperatura (40, 45 y 50°C).

* La asignación de diferentes letras indica diferencia estadísticamente significativa (*P*≤ 0.05), de la letra *a-e* representa la comparació entre tratamientos y de *w-z* entre tratmientos a una misma temperatura.

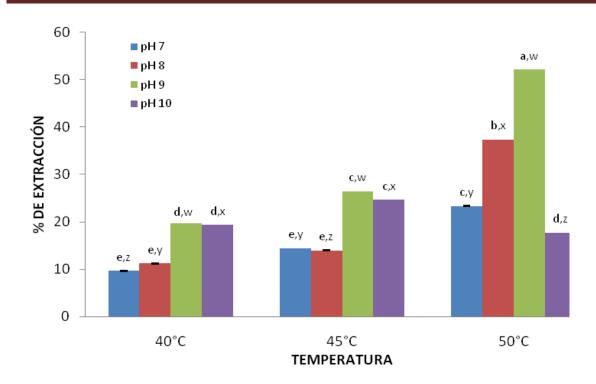


Figura 9. Cuantificación de β-glucanos de los extractos obtenidos a las combinaciones de pH (7, 8, 9 y 10) y temperatura (40, 45 y 50°C) de la variedad Gaviota Libres Pue.

* La asignación de diferentes letras indica diferencia estadísticamente significativa (*P*≤ 0.05), de la letra *a-e* representa la comparación entre tratamientos y de *w-z* entre tratmientos a una misma temperatura.

Temelli (1997) estudió como es afectada la extracción y las propiedades funcionales de β -glucanos de cebada por la temperatura y pH, encontrando que el mayor porcentaje de pureza de β -glucanos (89.1%) fue a pH 7 y 55°C (p>0.05), similares a estos fue a pH 7/40, 50°C y pH 8, 9/45°C. Por tanto los resultados obtenidos por Temelli (1997) se contraponen con los encontrados en este estudio, puesto que al aumentar el pH el contenido de β -glucanos aumentó, con excepción de la extracción a pH 10 donde el contenido de β -glucanos disminuyó a diferencia de sus resultados en los cuales encuentra que al aumentar el pH disminuye el contenido de β -glucanos.

Por otro lado, en un estudio realizado por Symons y Brennan (2004), quienes evaluaron el efecto del tratamiento sobre el rendimiento de fracciones de β-glucanos

de cebada y la pureza de β -glucanos, encontraron que la mayor recuperación de β -glucanos fue en fracciones purificadas (59%), la menor eficacia de extracción alcanzada fue con tratamiento de agua (pH 7, 55°C) (47%) esto pudo ser resultado de una división de β -glucanos por enzimas β -glucanasas, mientras que en las fracciones de ebullición (47.1%) y alcalino (39%), la menor eficacia de extracción puede ser atribuida a degradación térmica y/o a la contaminación de la harina o despolimerización alcalina respectivamente. La división enzimática, la degradación térmica y despolimerización ácido/alcalino que resulta en la pérdida de β -glucanos también pueden causar pérdida de peso molecular, reduciendo las propiedades funcionales del β -glucanos (Burkus y Temelli, 1998; Symons y Brennan, 2004).

El pH y a temperatura durante el proceso de extracción tienen gran importancia, pues las condiciones óptimas para la actividad de la β -glucanasa perece ser a pH neutro (Symons y Brennan, 2004), lo cual explica por qué, en este estudio, la menor recuperación de β -glucanos fue a pH 7. Por otra parte, cabe mencionar que existe una razón por la que no se obtuvo el 100% de β -glucanos de la harina integral, y es que existe una parte insoluble misma que no se extrae, porque los extractos obtenidos son solubles. Por otro lado, se ha recomendado mantener la temperatura de extracción por debajo de 55°C (20-50°C) para evitar la interferencia de la gelatinización del almidón (Fastnaught, 2001).

7.3 COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DE EXTRACTOS DE β-GLUCANOS

Se determinó la composición química del extracto de β -glucanos (en base seca) extraído a pH 9/50°C (Tabla 8).

Temelli (1997) determinó la composición química de extractos de la variedad Condor en distintas combinaciones de pH (7, 8, 9 y 10) y temperatura (40, 45, 50 y 55°C), comparando la composición química del extracto obtenido a pH 9/45°C se encontró que el contenido de humedad fue de 3.7%, y de lípidos 0.41%, el contenido de

almidón fue de 1.43%, la concentración de β -glucanos fue de 81.99%, mientras que el contenido de proteína fue de 6.16%. Con los resultados obtenidos en este estudio cabe destacar que los valores de extracto etéreo fueron mayores (0.54%) con respecto a los obtenidos por Temelli (1997), el contenido de humedad de igual manera fue mayor (8.70%), sin embargo ellos obtuvieron mayor contenido de almidón y concentración de β -glucanos pero menor contenido de proteína comparados con las concentraciones que se obtuvo en este extracto, y sobre todo cabe mencionar que se obtuvo un alto contenido de cenizas (6.75%) y esto debido probablemente a la utilización de harina integral para la extracción de β -glucanos, por tanto el salvado contribuye al incremento en el contenido de cenizas.

Tabla 8. Composición química del extracto de β-glucanos de la variedad Gaviota Libres Puebla (pH 9, 50°C).

Componente	%
Cenizas	6.76 ± 0.40
Extracto Etéreo	0.55 ± 0.07
Proteínas	16.63 ± 0.02
β-Glucanos	66.64 ± 0.29
Almidón	0.88 ± 0.40
Humedad	8.7 ± 0.09

7.3.1 Viscosidad

De igual manera se le determinó la viscosidad al extracto obtenido a pH 9/50°C (Figura 10) en el cual se observa un comportamiento no Newtoniano, mostrando pseudoplasticidad, es decir, a mayor fuerza aplicada menor viscosidad. En un estudio realizado por Wood *et al.* (1989) y Batty (1995) demostraron el comportamiento pseudoplástico de soluciones de goma de avena y cebada. Por otra parte, Lambo *et al.* (2005) determinaron la viscosidad de aislados de fibra fermentada

de concentraciones de avena y cebada, encontrando que todos mostraron un comportamiento pseudoplástico.

Se ha reportado que el peso molecular de los polímeros es una de las principales propiedades que determinan su viscosidad, es decir el peso molecular es directamente proporcional a la viscosidad, el peso molecular de β -glucanos va de $0.19-3.3 \times 10^6$ Da. Similarmente, la viscosidad de harinas de β -glucanos solubles es afectada por el contenido de β -glucanos solubles, la actividad de la β -glucanasa y el peso molecular de β -glucanos (Knuckles *et al.*, 1997; Pins y Kaur, 2006).

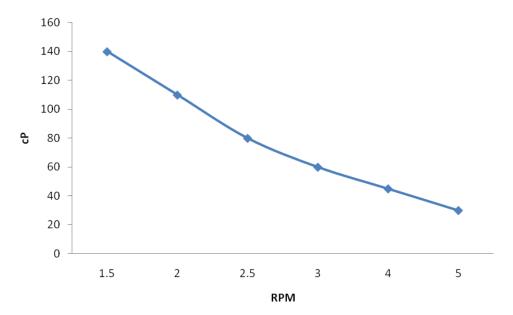


Figura 10. Viscosidad del extracto de β -glucanos de la variedad Gaviota libres Puebla (pH 9, 50 °C).

El incremento en el contenido de β-glucanos y almidón con temperatura de extracción puede ser responsable de tal comportamiento de viscosidad, teniendo un comportamiento no Newtoniano (Temelli, 1997).

La viscosidad del grano integral o de extractos de harina de cebada ha sido utilizada como un indicador del contenido de β -glucanos (Fastnaught, 2001). Schwarz y Lee

(1995) produjeron un aislado puro de β-glucanos (90%), el cual tuvo una viscosidad estable y mostró propiedades pseudoplásticas.

7.3.2 Capacidad de gelificación

En cuanto a la formación de geles se encontró que la concentración del 6% (p/v) mostró mayor resistencia a la penetración y la concentración de 5% (p/v) resultó ser más suave y por tanto tuvo menor resistencia a la penetración, la concentración de 5.5 % (p/v) parece estar en medio de las dos concentraciones mencionadas anteriormente (Figura 11), sin embargo, las concentraciones 5.5 y 6% (p/v) no mostraron diferencias estadísticamente significativas (p<0.05). La Fig. 11 muestra dos picos de fuerza-deformación y dos picos negativos, para fines de este estudio el factor de interés es el primer pico positivo, puesto que éste es el que determina la fuerza de penetración aplicada a los extractos de β-glucanos. Doublier y Wood (1995) reportaron que las gomas de avena hidrolizadas mostraron comportamiento como de gel y especularon que la alta viscosidad de las gomas de avena puede prevenir la gelificación. Por lo tanto, una mayor viscosidad de los extracto de βalucanos pudiera tener un efecto retardador sobre la gelificación. De igual manera en un estudio realizado por Burkus y Temelli (1999) muestran que para una apropiada gelificación se debe tener una baja viscosidad y un alto contenido de β-glucanos (> 70% en base seca). Por lo tanto, podemos concluir que la pureza y la viscosidad del extracto de β-glucanos afecta el comportamiento de la gelificación y que una mayor viscosidad de los extractos también puede interferir en la gelificación.

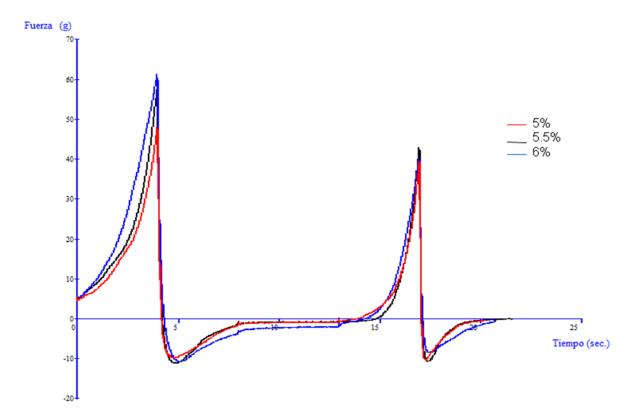


Figura 11. Capacidad de Gelificación del extracto de β-glucanos de la variedad Gaviota Libres Pue. (pH 9, 50°C) en tres concentraciones distintas.

7.3.3 Capacidad de emulsión

Las emulsiones formadas por los extractos de β -glucanos (pH 9/50°C), mostraron que la mayor capacidad de emulsión se obtiene a una concentración de 30 mg de extracto de β -glucanos por cada 60 mL de aceite, emulsionando hasta 19.58 mL de aceite, seguido por la concentración de 20 mg la cual emulsiona hasta 12.5 mL aceite, y la menor emulsión se produjo con 10 mg de extracto de β -glucanos (1.08 mL de aceite) y las cuales se muestran a continuación (Figura 12). Temelli (1997) realizó un estudio donde evalúa la estabilidad de emulsión la cual fueron estables en un 63.4% después de la centrifugación (pH 7, 55°C). Las combinaciones de altas temperaturas y alto pH tienden a disminuir la estabilidad de la emulsión. Los polisacáridos contribuyen a la estabilidad de emulsión, principalmente por el incremento de viscosidad de la fase acuosa. Estos polisacáridos no interactúan con la fase hidrofóbica.

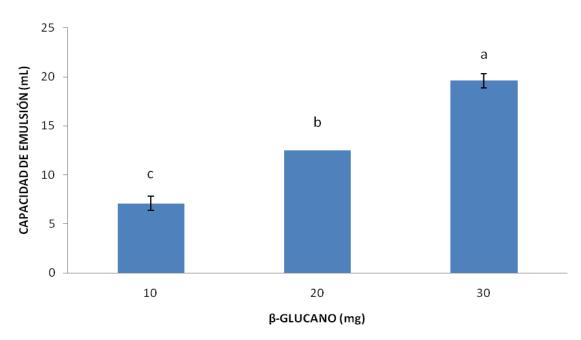


Figura 12. Capacidad de emulsión del extracto de β -glucanos de la variedad Gaviota Libres Pue. (pH 9, 50°C), en tres diferentes pesos (10, 20 y 30 mg) ($P \le 0.05$).

7.3.4 Capacidad y estabilidad de espuma

Con respecto a la formación de espuma encontramos que la concentración de 3% (p/v) de extracto de β -glucanos, pudo formar hasta 40.33 mL de espuma en un volumen total de 50 mL de agua (p<0.05), seguida por la concentración 2.5% (p/v) y finalmente 2% (p/v) (27.67 y 23.33 mL, respectivamente) (Figura 13). Aunado a ello la concentración que presenta mayor estabilidad de espumado, después de 2 hrs del batido, fue a 3% (p/v) teniendo una estabilidad de hasta el 50% (p<0.05) con respecto al volumen inicial, seguido de la concentración a 2.5% y finalmente 2% (p/v, 47.00 y 42.87 %, respectivamente) como se muestra en la figura 14.

Los polisacáridos son importantes tanto para la estabilidad de espumas como en la estabilidad de emulsiones, principalmente por que incrementan la viscosidad de la fase acuosa. Estos no interactúan con la fase hidrofóbica ya que no son verdaderos

surfactantes. La fusión de burbujas de aire y gotitas de aceite en sistemas de espuma y emulsión, respectivamente, es impedida por una fase acuosa. Sin embargo la correlación no es directa entre la viscosidad y la capacidad estabilizadora de espumado y emulsión. Otros componentes en las gomas (almidón, pentosas y proteínas) también contribuyen a la estabilidad. Las proteínas de los extractos obtenidos en condiciones de bajo pH y bajas temperaturas puede que tengan mejor funcionalidad que aquellos que se obtienen a alto pH y altas temperaturas. Estas proteínas pueden tener una contribución significativa a la formación y estabilidad de espumado (Temelli, 1997).

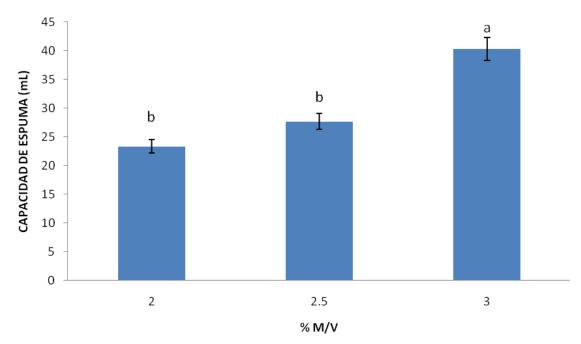


Figura 13. Capacidad de formación de espuma (mL) en tres distintas concentraciones (2, 2.5 y 3% p/v) de extracto de β -glucanos de la variedad Gaviota Libres Pue. (pH 9, 50°C) (P \leq 0.05).

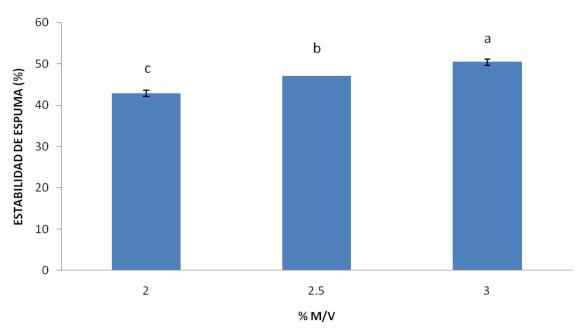


Figura 14. Estabilidad de espuma después de 2 hrs del batido en tres concentraciones diferentes (2, 2.5 y 3% p/v) de extracto de β-glucanos de la variedad Gaviota Libres Pue. (pH 9, 50°C) (*P*≤ 0.05).

7.3.5 Capacidad de retención de agua (CRA)

La siguiente figura muestra la CRA, en este estudio se encontró que una concentración de 800 mg de extracto de β -glucanos (todas las concentraciones hidratadas con 15 mL de agua) es capaz de incrementar hasta un 287.41% su peso con respecto al peso inicial del extracto, reteniendo 3.09 g de agua/g peso seco (p<0.05), en segundo lugar está la concentración de 500 mg de extracto la cual retuvo 1.77 g de agua/g peso seco y por último la concentración de 300 mg de extracto retuvo 1.02 g de agua/g peso seco. Symons y Brennan (2004) determinaron que el tratamiento de extracción afecta significativamente la CRA de fracciones de fibra de β -glucanos de cebada. Las fracciones purificadas mostraron mayor CRA (8.37 g/g peso seco). La menor capacidad de retención de agua fue mostrada por las fracciones alcalinas (6.41 g/g peso seco) esta diferencia en la CRA ha mostrado ser relativa para la cantidad de fibra soluble e insoluble dentro del modelo del gel.

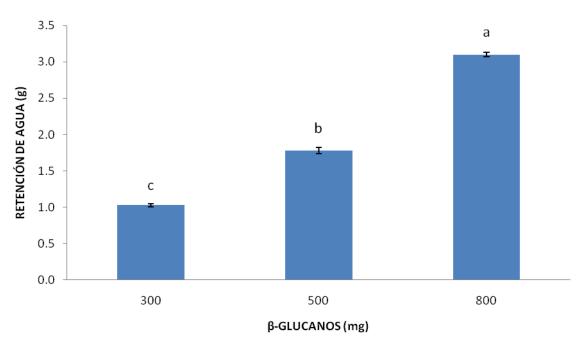


Figura 15. Capacidad de retención de agua (CRA) en tres diferentes pesos (300, 500 y 800 mg) de extracto de β-glucanos de la variedad Gaviota Libres Pue. (pH 9/50°C) ($P \le 0.05$).

El consumo de β-glucanos de cebada en la dieta tiene efectos benéficos en la salud, teniendo un papel de prebiótico, las investigaciones realizadas hasta el momento parecen poner de manifiesto que la incorporación a la dieta de compuestos prebióticos aumenta el número de bifidobacterias en el colon. Así como también ayuda a disminuir los niveles de colesterol en sangre, disminuye la intolerancia a la glucosa y la resistencia a la insulina, a prevenir cáncer de colon y enfermedades cardiovasculares, entre otras. Estos efectos benéficos en la salud son atribuidos principalmente a la viscosidad de los extractos así como a la capacidad de retención de agua.

8. CONCLUSIONES

- La variedad con mayor contenido de β-glucanos resultó ser la variedad Gaviota Libres Puebla.
- La mejor combinación de extracción y pureza de β-glucanos fue a pH 9/50°C, con una pureza del 66.64% (en base seca).
- El extracto de β-glucanos obtenido a pH 9/50°C, tiene altos niveles de proteína y ceniza, resultado de haber utilizado harina integral para la extracción de β-glucanos.
- ➤ El extracto obtenido bajo condiciones de pH 9/50°C mostró tener un comportamiento pseudoplástico, lo que da como resultado la formación de geles suaves.
- Dichos extractos mostraron tener buena capacidad de espuma (40 mL de espuma) y una estabilidad máxima del 50% después de 2 hrs de batido.
- Por otra parte tiene una capacidad máxima de emulsión de 19.58 mL por cada 60 mL de aceite, así como una CRA máxima de 3.09 g/g peso seco.

9. RECOMENDACIONES Y PERSPECTIVAS

Recomendaciones:

- Determinar cómo afecta la temperatura y pH a la extracción de los β-glucanos.
- \triangleright Determinar la relación entre el peso molecular de los β-glucanos y sus propiedades funcionales.
- Caracterizar todos los extractos de las diferentes combinaciones de pH y temperatura para poder compararlos entre ellos y sacar datos más reproducibles.
- Extraer los β-glucanos insolubles y caracterizarlos.
- Evaluar si existe activación de la enzima β-glucanasa durante la extracción.
- Evaluar el efecto fisiológico de los extractos β-glucanos in vivo

Perspectivas:

Los cereales juegan un papel primordial en la alimentación humana, representando el 73% de la producción total de alimentos en mundo, proporcionando fibra dietética, proteínas, energía, minerales, y vitaminas requeridas para mantener la salud. Surge el interés en el diseño de alimentos funcionales para mejorar la salud y el bienestar de los consumidores, así como reducir el riesgo de enfermedades crónico degenerativas. De ahí la evaluar a los β -glucanos como un aditivo en alimentos e incluso elaborar un tipo de alimento (ejemplo barras de cebada con β -glucanos) que los incluyan y evaluar sus propiedades fisiológicas en pacientes con alguna patología.

En específico, se ha comprobado que la ingesta de β-glucanos tiene diversos efectos benéficos en la salud, representando una alternativa en la prevención y tratamiento de algunas patologías. Se ha reportado su efecto preventivo en algunos cánceres (principalmente de colon), debido a la inhibición de ciertos cancerígenos. Así como

también en la disminución de glucosa y colesterol en sangre, en la prevención y tratamiento de estreñimiento y de enfermedades cardiovasculares.

Por otro lado también sería interesante investigar si por medio de alguna reacción enzimática es posible optimizar la extracción de β -glucanos de cebada puesto que hasta el momento no hay reportes de que ya se haya hecho.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Åman, P., y Graham, H. 1987. Analysis of Total and Insoluble Mixed-Linked $(1\rightarrow 3), (1\rightarrow 4)-\beta$ -D-Glucans in Barley and Oats. *J. Agric. Food Chem.* **35**: 704-709.
- Arndt, E.A. 2006. Whole-Grain Barley for Today's Health and Wellness Needs. *Cereal Foods World*. **51**: 8-10.
- BACOMEXT.2007.Dirección:http://www.bancomext.gob.mx/Bancomext/aplicaciones/nutricias/muestraNoticia. Fecha de consulta: 10/03/2007. Fecha de actualización: 04/01/2007.
- Baik, B-K., y Ullrich, S. E. 2008. Barley for Food: Characteristics, Improvement, and Renewed Interest. *J. Cereal Sci.* **48**: 234–240.
- Batty, R. S. 1995. Laboratory and Pilot Plant Extraction and Purification of β-Glucans from Hulles Barley and Oat Brans. *J. Cereal Sci.* **22**: 163-170.
- Batty, R. S., y Rossnagel, B. D. 1998. Comparison of Pearled and Unpearled Canadian and Japanese Barleys. Cereal Chem. **75**: 15-21.
- Bohn, J. A., y BeMiller, J. N. 1995. (1→3)–β–D-Glucans as Biological Modifiers: A Review of Structure-Functional Activity Relationships. *Carbohydr. Polym.* **28**: 3-14.
- 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.
- Burkus, Z., y Temelli, F. 1999. Gelation of Barley β-Glucan Concentrate. *J. Food Sci.* **64**: 198-200.
- Callejo, G. M. J. 2002. Industria de cereales y derivados. En: *Colección tecnología de alimentos*. AMV Ediciones, Zaragoza, España. pp: 41-48.
- Cargill. 2005. Health Benefits of Barley Foods. Documento disponible en PDF: http://www.cargillhft.com. Fecha de consulta: 22/09/2008. Fecha de actualización: 20/09/2008.

- Champ, M., Langkilde, A. M., Brows, F., Kettlitz, B., y Bail, C. Y. 2003. Advances in Dietary Fiber Characterisation. 1. Definition of Dietary Fiber, Phisiological Relevance, Health Benefits and Analytical Aspects. *Nutr. Res. Rev.* **16**: 71-82.
- Charalampopoulus, D. M., Wang, R., Pandiella, S. S., y Webb, C. 2002. Application of Cereal and Cereal Components in Functional Food: a Review. *J. Food Microbiol.* **79**: 131-141.
- Doublier, J. L., y Wood, .P. J. 1995. Rheological Properties of Aqueous Solutions of $(1\rightarrow 3)$ $(1\rightarrow 4)$ - β -D-Glucan from Oats. *Cereal Chem.* **72**: 335-340.
- Fastnaught, C. E. 2001. Barley fiber. En: *Handbook of Dietary fibre*. (ed) Cho, S. S. Marcel Dekker Incorporated, New York, NY. pp: 519-539.
- Fastnaught, C. E., Berglund, P. Y., Holm, E. T., y Fox, G. J. 1996. Genetic and Environmental Variation in β-Glucano Content and Quality Parameters of Barley for Food. *Crop Sci.* **36**: 941-946.
- Fontecha, J. 2003. Los Probióticos en los Alimentos: Origen y Efectos sobre el Organismo Humano. En: *Nuevo Alimentos para Nuevas Necesidades*.(ed) Pinto, F. J. A. Nueva Imprenta S.A., Madrid, España. pp: 71-79.
- Fox, G. P., Osborne, B., Bowman, J., Kelly, S., Cakir, M., Poulsen, D., Inkerman, A., y Henry, R. 2007b. Measurement of Genetic and Environmental Variation in Barley (*Hordeum vulgare*) Grain Hardness. *J. Cereal Sci.* **46**: 82-92.
- Herrera, B. I. M., Gonzalez, G. E. P., Romero, J.G. 1998. Soluble, Insoluble and Total Dietary Fiber in Raw and Cooked Legumes. *Arch. Latinoam. Nutr.* **48**: 179-182.
- Inglett, G. E. 2001. New Grain Products and Their Beneficial Components. *Nutr. Today.* **36**: 66-68.
- Jadhav, S. J., Lutz, S. E., Ghorpade, V.M., y Salunkhe, D. K. 1998. Barley: Chemistry and Value-Added Processing. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **38**: 123-171.
- Kent, L. N. 1987. Cebada. En: *Tecnología de los Cereales*. Excribia S.A., España. pp: 5-154.
- Kontula, P., Jaskari, J., Nollet, L., De Smet, I., Von Wright, A., Poutanen, K., y Mattila-Sandholm, T. 1998. The Colonization of a Simulator of the Intestinal Microbial Ecosystem by a Probiotic Strain Fed on a Fermented Oat Bran Product: Effects on the Gastrointestinal Microbiota. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **50**: 246-252.

- Knuckles, B. E., Yokoyama, W. H., y Chiu, M. M. 1997. Molecular Characterization of Barley β-Glucan by Size Exclusion Chromatography with Multiple Angle Laser Light Scattering and Other Detectors. *Cereal Chem.* **74**: 599-604.
- Knuckles, B. E., Hudson, C. A., Chiu, M. M. y Sayre, R. N. 1997. Effect of β-Glucan Barley Fractions in High-Fiber Bread and Pasta. Cereal Foods World. **42**: 94-99.
- Lambo, A. M., Östen, R., y Nyman, M. E. G-L. 2005. Dietary Fibre in Fermented Oat and Barley β-Glucan Rich Concentrates. *Food Chem.* **89**: 283-293.
- Lia, A., Hallmans, G., Sandberg, A. S., Sundberg, B., Åman, P., y Anderson, H. 1995.

 Oat β-Glucan Increases Bile Acid Excretion and a Fiber-Rich Barley Fraction

 Increases Cholesterol Excretion in Ileostomy Subjects. *Am. J. Clin. Nutr.* 62:
 1245-1251.
- Lifschitz, C. H., Grusak, M. S., 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., Guzmán, O. F., y Román G. A. 2005. Calidad Física de Diferentes Variedades de Cebada (*Hordeum sativum* Jess) Cultivadas en los Estados de Hidalgo y Tlaxcala. Disponible en línea: http://www.respyn.uanl.mx/especiales/2005/ee-13 2005/documentos/CNA02.pdf. Fecha de consulta: 18/Jun/08.
- Marlett, J. A. 1990. Analysis of Dietary Fiber in Human Foods. En: *Dietary Fiber*. (eds) Kritchevsky, D., Bonfield, C., y Anderson, J. W. New York. pp: 31-34.
- McCleary, B. V. 2006. AOAC 995.16, Megazyme Mixed-Linkage Beta-Glucan.
- McIntosh, G. H., Whyte, J., McArthur, R., y Nestel, P. J. 1991. Barley and Wheat Foods: Influence on Plasma Cholesterol Concentrations in Hypercholesterolemic men. *Am. J. Clin. Nutr.* **53**: 1205-1209.
- Molina, M. M., y Martín, I. A. 2007. La Fibra Dietética Procesada como Alimento Funcional. Ámb. Farm. Nutr. 26: 70-77.
- NMX-FF-043-SCFI-2003. Productos alimenticios no industrializados para uso Humano. Cereal. Cebada maltera (*Hordeum vulgare* y *H. distichum*). Especificaciones.
- Pamplona R. J. 2004. Alimentos para el aparato digestivo. En: *Enciclopedia de los alimentos y su poder curativo*. Biblioteca educación y salud. España. pp: 150-174.

- Pearson, D. 1976. Métodos Generales, Contituyentes Básicos. En: *Técnicas de Laboratorio para el Análisis de Alimentos*. Acribia, Zaragoza, España. pp: 41-70.
- Pins, J. J., y Kaur, H. 2006. A Review of The Effects of Barley β-Glucan on Cardiovascular and Diabetes Risk. *Cereal Foods World*. **51**: 8-10.
- SAGARPA. 2007. Subsecretaria de Agricultura.G.D y S.I.A.P., con información de las Delegaciones, Distritos y Cader's.
- SAGARPA. 2008. Avance de siembras y cosechas. Resumen nacional por producto, otoño-invierno. Riego y Temporal. Disponible en: http://reportes.siap.gob.mx/Agricola_siap/ResumenProducto.do. Fecha de consulta: 21/Feb/09.
- Saulnier, L., Gevaudan, S., y Thibault, J. F. 1994. Extraction and Partial Characterisation of β-Glucan from the Endosperms of two Barley Cultivars. J. *Cereal Sci.* **19**: 171-178.
- Schwarz, P. B., y Lee, Y-T. 1995, Rheological and Chemical Characterization of (1→3),(1→4)−β−D-Glucans Form Hull-Less Barley. En: *Progress in Plant Polymeric Carbohydrate Research*. (ed) Measure, F., Manners, D. T., y Seibel, W. Hamburgr: Behr's Verlag. pp: 99-103.
- Serna, S. S. 2001. Composición Química de los Cereales. En: *Química, Almacenamiento e Industrialización de los Cereales*. AGT Editor, S.A. 2^{da} Ed. México, D.F., pp: 48-51.
- SIIT. 2008. Sistema Integrado de Información Taxonómica. http://siit.conabio.gob.mx/pls/itisca/next?v_tsn=40874&taxa=&p_format=&p_ifx=itismx&p_lang=es. Fecha de actualización: 14-Marzo -2008. Fecha de acceso: 15-Marzo-2008.
- 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**: 257-260.
- Temelli, F. 1997. Extraction and Functional Properties of Barley β-Glucan as Affected by Temperature and pH. *J. Food Sci.* **62**: 1194-1197.
- Vetvicka, V., Thornton, B. P., y Roos, G. D. 1996. Soluble β-Glucan Polysaccharide Binding to the Lectin Site of Neutrophil or Natural Killer Cell Complement Receptor Type 3 (CDI Lb/CDI8) Generates a Primed State of the Receptor

- Capable of Mediating Cytotoxicity of iC3b-Opsonized Target Cells. *J. Clin. Invest.* **98**: 50-61.
- Wang, L., Newman, R. K., Newman, C. W., y Hofer, P. J. 1992. Barley β–Glucans Alter Intestinal Viscosity and Reduce Plasma Cholesterol Concentrations in Chicks. *J. Nutr.* **12**: 2292-2297.
- Wilson, T. A., Nicolosi, R. J., Delaney, B., Chadwell, K., Moolchandani, V., Kotyla, T., Ponduru, S., Zheng, G., Hess, R., Knutson, N., Curry, K., Kolberg, L., Goulson, M., y Ostergren, K. 2004. Reduced and High Molecular Weight Barley β-Glucans Decrease Plasma Total and Non-HDL-Cholesterol in Hypercholesterolemic Syrian Golden Hamsters. *J. Nutr.* 134: 2617–2622.
- Wood, P. J., Weisz, J., Fedec, P., y Burrows, V. D. 1989. Large Scale Preparation and Properties of Oat Fractions Enriched in (1 3) (1 4)-β-D-Glucan. *Cereal Chem.* **66**: 97-103.
- Wursch, P., y Pi-Sunyer, P. X. 1997. The Role of Viscous Soluble Fiber in the Metabolic Control of Diabetes. *Diebetes Care.* **20**: 1774-1780.
- Yokoyama, W. H. 2006. Soluble Fiber Prevent Insulin Resistance in Hamsters Fed High Saturated Fat Diets. *Cereal Foods World*. **51**: 16-17.

ANEXOS

1. Avance de siembras y cosechas de cebada en el ciclo primavera-verano en el año 2008.

PRODUCCION AGRICOLA

Ciclo: Primavera-Verano 2008

Modalidad: Temporal

CEBADA GRANO

Ubicación	Sup. Sembrada	Sup. Cosechada	Sup. Siniestrada	Producción	Rendimiento	PMR	Valor Producción
	(Ha)	(Ha)	(Ha)	(Ton)	(Ton/Ha)	(\$/Ton)	(Miles de Pesos)
COAHUILA	1,200.00	600	600	492	0.82	1,500.00	738
DURANGO	1,890.00	1,850.00	40	3,638.30	1.97	3,234.18	11,766.90
GUANAJUATO	15,522.00	14,722.00	800	20,171.50	1.37	2,802.29	56,526.30
HIDALGO	118,601.13	113,025.13	5,576.00	241,174.44	2.13	3,099.95	747,628.80
JALISCO	3,197.00	3,197.00	0	3,373.45	1.06	2,016.79	6,803.54
MEXICO	39,001.70	38,501.70	500	62,767.33	1.63	4,090.25	256,734.21
OAXACA	240	240	0	197.63	0.82	4,057.61	801.9
PUEBLA	33,350.22	31,489.33	1,860.89	79,811.55	2.54	2,771.34	221,184.70
QUERETARO SAN LUIS	193	193	0	354	1.83	2,489.83	881.4
POTOSI	8,725.00	7,000.00	1,725.00	5,600.00	0.8	4,180.00	23,408.00
TAMAULIPAS	275	252	23	428.4	1.7	1,200.00	514.08
TLAXCALA	38,927.50	38,236.50	691	90,128.29	2.36	3,732.47	336,400.98
VERACRUZ	820	820	0	1,439.00	1.76	2,671.92	3,844.90
ZACATECAS	19,691.00	19,646.00	45	38,794.00	1.98	2,856.50	110,815.25
	281,633.55	269,772.66	11,860.89	548,369.89	2.03	3,242.43	1,778,048.97

Fuente: SAGARPA. 2008

2. RESULTADOS ESTADÍSTICOS

Tabla 9. Molienda de las diferentes variedades de los estados de Hidalgo y Puebla.

VARIEDAD	% SÉMOLA	% HARINA	% SALVADO
Adabella Libres Pue.	46.9	24.1	29.0
Gaviota Libres Pue.	58.4	20.8	20.8
Esmeralda Libres Pue.	46.5	22.6	30.9
Adabella Coatlalco Hgo.	55.6	19.3	25.1
Esmeralda Apan Hgo.	43.2	26.5	30.3
Gaviota El llano Almoloya Hgo.	45.6	25.4	29.0

Diferencia con prueba de ANOVA p< 0.05

Tabla 10. % de β-glucanos de harina-sémola, salvado y grano entero de las diferentes variedades de los estados de Hidalgo y Puebla.

	% DE β-GLUCANOS			
VARIEDAD	HARINA/SÉMOLA	SALVADO	GRANO ENTERO	
Adabella Libres Pue.	2.69 ± 0.125	0.94 ± 0.035	2.69 00± 0.1539°	
Gaviota Libres Pue.	3.06 ± 0.020	1.25 ± 0.039	3.0633 ± 0.0208^{d}	
Esmeralda Libres Pue.	2.26 ± 0.027	1.00 ± 0.021	2.2567 ± 0.0306 ^b	
Adabella Coatlalco Hgo.	1.92 ± 0.169	1.98 ± 0.147	1.9200 ± 0.2081 ^a	
Esmeralda Apan Hgo.	1.67 ±0.028	1.11 ± 0.012	1.6700 ± 0.0361 ^a	
Gaviota El llano Almoloya Hgo.	2.37 ± 0.048	1.01 ± 0.019	2.3733 ± 0.3004 ^b	

Diferencia con prueba de ANOVA p< 0.05

Tabla 11. Porcentaje de extracción de la variedad Gaviota Libres Pue. en distintas combinaciones de pH y temperatura.

рН	40°C	45°C	50°C
7	9.6467 ± 0.0208 ^e	14.3833 ± 0.0252 ^e	23.3600 ± 0.0300°
8	11.2033 ± 0.0231 ^e	13.9800 ± 0.0400 ^e	37.3833 ± 0.0153 ^b
9	19.7467 ± 0.0115 ^d	26.4167 ± 0.0306°	52.1000 ± 0.0200^{a}
10	19.3267 ± 0.0115 ^d	24.6467 ± 0.0058 ^c	17.7267 ± 0.0252 ^d

Diferencia con prueba de ANOVA p< 0.05

Tabla 12. Cuantificación de β-glucanos de los extractos obtenidos a diferentes combinaciones de pH y temperatura de la variedad Gaviota Libres Pue.

рН	40°C	45°C	50°C
7	29.6572 ± 0.0306 ^e	32.8040 ± 0.0361 ^e	27.3443 ± 0.0265 ^e
8	39.4446 ± 0.0252 ^d	57.7016 ± 0.0265 ^b	40.8141 ± 0.0208 ^d
9	48.4833 ± 0.0351°	62.3032 ± 0.0365 ^b	66.6485 ± 0.0493^{a}
10	51.8310 ± 0.0917°	47.5551 ± 0.0473°	48.4011 ± 0.0306 ^d

Diferencia con prueba de ANOVA p< 0.05

Tabla 13. Capacidad de gelificación del extracto de β-Glucano de la variedad Gaviota Libres Pue. (pH 9, 50°C) en tres distintas concentraciones (5, 5.5 y 6% p/v).

β-GLUCANOS	GELIFICACIÓN	
,		
(mg)	FUERZA (g)	
5	37.4450 ± 0.2051 ^b	
5.5	39.5650 ± 0.4596^{a}	
6	40.1900 ± 0.1980^{a}	

Diferencia con prueba de ANOVA p< 0.05

Tabla 14. Capacidad de emulsión del extracto de β-Glucano de la variedad Gaviota Libres Pue. (pH 9, 50°C) en tres pesos distintos (10, 20 y 30 mg/60 mL aceite).

β-GLUCANOS	CAPACIDAD DE
(mg)	EMULSIÓN (mL)
10	4.7222 ± 0.3928 ^c
20	8.3333 ± 0.0000 ^b
30	13.0556 ± 0.3928 ^a

Diferencia con prueba de ANOVA p< 0.05

Tabla 15. Capacidad de formación de espuma del extracto de β-Glucano de la variedad Gaviota Libres Pue. (pH 9, 50°C) en tres distintas concentraciones (2, 2.5 y 3% p/v).

% M/V	CAPACIDAD DE ESPUMA
70 IVI/ V	(mL)
2	23.333 ± 0.5774 ^c
2.5	27.667 ± 0.5774 ^b
3	40.333 ± 0.5774 ^a

Diferencia con prueba de ANOVA p< 0.05

Tabla 16. Estabilidad de espuma después de 2 hrs del batido del extracto de β-Glucano de la variedad Gaviota Libres Pue. (pH 9, 50°C) en tres concentraciones distintas (2, 2.5 y 3% p/v).

% M/V	ESTABILIDAD DE ESPUMA	
	(%)	
2	42.8767 ± 1.0450 ^c	
2.5	47.0033 ± 0.9930 ^b	
3	50.4067 ± 0.7044 ^a	

Diferencia con prueba de ANOVA p< 0.05

Tabla 17. CRA del extracto de β-Glucano de la variedad Gaviota Libres Pue. (pH 9, 50°C) en g y %.

β-GLUCANOS (mg)	RETENCIÓN DE AGUA (g)	CAPACIDAD RETENCIÓN DE AGUA (%)
300	1.0272 ± 0.0195 ^a	242.4111 ± 0.0159 ^b
500	1.7774 ± 0.0431 ^b	255.4733 ± 0.0352 ^b
800	3.0993 ± 0.0292^{c}	287.4125 ± 0.0239 ^a

Diferencia con prueba de ANOVA p< 0.05

3. REACTIVOS UTILIZADOS EN EL DISEÑO EXPERIMENTAL

- → Ácido Bórico (H₃BO₃): Química Meyer, México.
- Ácido Clorhídrico (HCI): Mallinckrodt, México.
- ➤ Ácido Sulfúrico (H₂SO₄): J.T Baker, México.
- ➤ Carbonato de Sodio (Na₂CO₃): J.T Baker, México.
- Etanol (99.9%): Reyma Merck, Pue. México.
- Éter de Petróleo: Química Meyer, México.
- Hidróxido de Sodio (NaOH): J.T Baker México.
- ➤ Ortofosfato de Sodio Dihridrogenado Dihidratado (NaH₂PO₄2H₂O): J.T Baker, México.
- Paquete enzimático para determinar almidón: Sigma-Aldrich, St. Louis MO, EU.
- Paquete enzimático para determinar β-Glucanos de cebada: Megazyme International, Wicklow, Ireland.

1. EQUIPOS UTILIZADOS.



AGITADOR BALDOR ELECTRIC Industrial Motor (E.U).



MOLINO DE LABORATORIO (CHOPIN CD1, Francia).



HORNO Modelo AS2035, Scorpion Scientific, EU.



BALANZA ANALÍTICA Modelo EP213C, Explorer Pro.



BAÑO CON AGITACIÓN HORIZONTAL Modelo A12050, Scorpion Scientific, EU



ESPECTROFOTOMETRO Modelo 6405, Barloworld Scientific Ltd, EU



DIGESTOR Modelo TR, Kjeldatherm, Gerhardt GmbH & Co., Königswinter, Alemania



EQUIPO DE DESTILACIÓN Modelo VAP 50, Vapodest, Gerhardt GmbH & Co., Königswinter, Alemania



MUFLA Modelo FD1535M, Barnstead/Thermolyne, EU



VISCOSÍMETRO Modelo DV-E, Brookfield Ingineering Laboratories, Inc. EU



BAÑO DE CALENTAMIENTO Modelo 1225, Sheldon Manufacturing, Inc. EU



EQUIPO SOXHLET