



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

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

Desarrollo y evaluación fisicoquímica-sensorial de
pan fermentado adicionado con harina de cebada
forrajera rica en β -glucanos

TESIS

Que para obtener el título de

Licenciada en Nutrición

P R E S E N T A

P.L.Nut. Nayla Gabriela Cruz Ortega
No. cuenta: 294588

Bajo la Dirección de:
Dr. Ernesto Alanís García
Investigador de Tiempo Completo

Área Académica de Nutrición
UAEH-ICSa



Pachuca, Hgo. 2019.

“Vive, como si fueras a morir mañana. Aprende, como si fueras a vivir para siempre”

“Cuida tus pensamientos, porque se convertirán en tus palabras. Cuida tus palabras, porque se convertirán en tus actos. Cuida tus actos, porque se convertirán en tus hábitos. Cuida tus hábitos, porque se convertirán en tu destino”

-Mahatma Gandhi-

Agradecimientos

La vida es hermosa y la característica de esta hermosura es que debemos compartir y disfrutar de cada momento con quienes amamos, lo cual agradezco día a día. Gracias a Dios por la vida tan maravillosa que me has regalado, por permitirme tener una familia única que disfrutar, que siempre me acompaña y me apoya en cada decisión y proyecto.

A mis padres por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad; muchos de mis logros se los debo a ustedes, mil gracias por siempre alentarme a cumplir mis metas, por formarme como una persona responsable, humilde y honesta, por permitirme cumplir con excelencia en el desarrollo de esta tesis, gracias por todo madre y padre.

Es importante agradecer también a una persona muy especial que siempre estuvo presente durante todo este proceso, quien me dijo una vez “Si alguien más pudo tú también puedes, y si nadie pudo entonces tú serás la primera en lograrlo”, lo que me llenó de confianza, aclaró mi mente y pensamientos en los momentos indicados permitiéndome llegar a la culminación de este proyecto, gracias por creer en mí.

Finalmente agradezco a los doctores y maestros que atinadamente me fueron guiando, aportando su conocimiento, por la paciencia para el desarrollo y término de la tesis. Y no menos importante también les agradezco a mis compañeras del laboratorio por todo el apoyo moral, por hacer bastante amena mi estancia y siempre mostrarme una sonrisa, esperando formar una amistad duradera y sincera.

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
1. MARCO TEÓRICO	3
1.1. Generalidades de la cebada forrajera	3
1.2. Producción de cebada en México	4
1.3. Taxonomía y morfología	4
1.4. Composición nutrimental de la cebada	7
1.4.1. Fibra dietética	8
1.4.2. β -glucanos.....	8
1.5. Usos	14
1.6. Pan	14
1.6.1. Consumo de pan en México.....	16
2. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	17
3. JUSTIFICACIÓN	18
4. OBJETIVOS	19
4.1. General	19
4.2. Objetivos específicos	19
5. DISEÑO METODOLÓGICO	20
5.1. Desarrollo metodológico	20
5.2. Obtención y caracterización de harinas	23
5.2.1. Obtención de harina de cebada	23
5.2.2. Caracterización química de la harina de cebada y trigo.....	24
5.3. Obtención y caracterización del producto	30
5.3.1. Proceso de formulación del producto de panificación	30
5.3.2. Elaboración del pan tipo bolillo.....	32
5.3.3. Composición del producto de panificación.....	33
5.4. Evaluación de cambios sensoriales y de peso durante el almacenamiento.	36
5.4.1. Evaluación sensorial.....	36
5.4.2. Determinación de porcentaje de pérdida de peso.....	37
5.5. Diseño estadístico	37
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
6.1. Obtención y caracterización de harina	39

6.1.1. Obtención de harina de cebada	39
6.1.2. Caracterización química de la harina de cebada y trigo.....	40
6.2. Obtención y caracterización del producto	47
6.2.1. Elaboración del pan	47
6.2.2. Composición del producto de panificación.....	49
6.3. Evaluación de cambios sensoriales y cambios de peso durante el almacenamiento.	64
6.3.1. Evaluación sensorial	64
6.3.2. Pérdida de peso durante el almacenamiento.....	69
7. CONCLUSIONES	72
8. PERSPECTIVAS	74
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76
ANEXOS	91
Anexo 1. Formato de evaluación sensorial.	91
Anexo 2. Ficha técnica de fibra dietética total	93
Anexo 3. Ficha técnica de β-glucanos	95

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1. Morfología y taxonomía de la cebada.....</i>	<i>6</i>
<i>Figura 2. Estructura de β-glucano de cereal (2A) y de levadura (2B).....</i>	<i>9</i>
<i>Figura 3. Diseño metodológico general.....</i>	<i>22</i>
<i>Figura 4. Esquema general de panificación.....</i>	<i>32</i>
<i>Figura 5. Imágenes de la miga en color, escala de grises y visualización con el algoritmo de Otsu de los tratamientos.....</i>	<i>61</i>
<i>Figura 6. Análisis sensorial de las distintas formulaciones de pan en 48 horas de almacenamiento (A, B, C) y su preferencia general (D).....</i>	<i>67</i>
<i>Figura 7. Pérdida de peso durante el almacenamiento.....</i>	<i>70</i>

ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1. Composición típica de la cebada (g/Kg).....</i>	<i>7</i>
<i>Tabla 2. Recopilación de investigaciones con productos con contenido de β-glucanos derivados de avena y cebada.....</i>	<i>11</i>
<i>Tabla 3. Listado de formulaciones.....</i>	<i>21</i>
<i>Tabla 4. Formulaciones para la elaboración de los diferentes panes, proporción de ingredientes utilizando como base la harina (100 %) a utilizar.....</i>	<i>31</i>
<i>Tabla 5. Rendimiento de molienda del grano de cebada para la obtención de harina integral.</i>	<i>39</i>
<i>Tabla 6. Análisis químico proximal (%) de las distintas formulaciones de harinas. ...</i>	<i>41</i>
<i>Tabla 7. Contenido de fibra dietética total y β-glucanos (%) de las distintas formulaciones de harinas.</i>	<i>45</i>
<i>Tabla 8. Rendimiento (%) de masa respecto a la pérdida de peso durante el horneado.</i>	<i>47</i>
<i>Tabla 9. Análisis químico proximal (%) de las distintas formulaciones de pan.....</i>	<i>50</i>
<i>Tabla 10. Contenido de fibra dietética total, β-glucanos y cloruros de sodio (%) de las distintas formulaciones de pan.</i>	<i>56</i>
<i>Tabla 11. Análisis de dimensiones de las piezas (65 g) con Vernier de las distintas formulaciones en cm.</i>	<i>59</i>
<i>Tabla 12. Estructura de la miga de las distintas formulaciones de pan.....</i>	<i>60</i>
<i>Tabla 13. Evaluación sensorial por tipo de muestra y tiempo de almacenamiento ...</i>	<i>65</i>
<i>Tabla 14. Pérdida de peso durante el almacenamiento.</i>	<i>69</i>

ABREVIATURAS

HCO:	carbohidratos
FD:	fibra dietética
CT:	colesterol total
LDL:	lipoproteínas de baja densidad
IMC:	índice de masa corporal
AGCC:	ácidos grasos de cadena corta
PM:	peso molecular
AQP:	análisis químico proximal
CO ₂ :	dióxido de carbono
HT:	harina 100 % trigo
H50:	harina 50 % trigo/ 50 % cebada
H75:	harina 25 % trigo/ 75 % cebada
H100:	harina 100 % cebada
PT:	pan 100 % trigo
P50:	pan 50 % trigo/ 50 % cebada
P75:	pan 25 % trigo/ 75 % cebada
P100:	pan 100 % cebada
P90:	pan 0 % trigo/ 90 % cebada/ 10 % gluten
P25:	pan 75 % trigo/ 25 % cebada

UNIDADES

Kg: kilogramos

g: gramo

mg: miligramo

nm: nanómetro

mm: milímetro

mL: mililitro

μm : micrómetro

μL : microlitro

μg : microgramo

N: normalidad

min: minuto

rpm: revoluciones por minuto

ppp: puntos por pulgada

in: pulgada

%: porcentaje

RESUMEN

La cebada forrajera (*Hordeum vulgare*) es una planta de cultivo anual, presenta un contenido de fibra dietética importante, especialmente soluble, representado principalmente por los β -glucanos. El objetivo del presente estudio fue desarrollar y caracterizar un pan fermentado tipo bolillo adicionado con harina de cebada forrajera por un método convencional con el fin de obtener un producto con alto contenido de β -glucanos y adecuadas características sensoriales. La investigación se realizó en tres etapas, la primera la obtención de la harina de cebada y una caracterización de las harinas. La elaboración de las formulaciones de pan de 100 % trigo (PT), 50 % trigo/ cebada (P50), 25 % trigo/ 75 % cebada (P75), 100 % cebada (P100), 90 % de harina de cebada adicionada con gluten (10 %) (P90); realizándose la caracterización de los panes (análisis químico proximal, fibra dietética total, β -glucanos, cloruros de sodio, análisis estructural de miga y dimensiones del producto). Finalmente se realizó la evaluación sensorial y pérdida de peso durante 48 horas de almacenamiento. Se obtuvo una harina integral de cebada con un rendimiento de 90.92 %, mostrando un mayor porcentaje de humedad (13.25 %), cenizas (1.52 %), proteínas (10.66 %), grasas (1.98 %), fibra dietética total (12.29 %) y β -glucanos (5.71 %) en comparación con la harina de trigo. Las muestras de pan con mayor porcentaje de harina de cebada (P100 y P90) tuvieron mayores porcentajes de ceniza (2.38 % y 2.34 %), proteína (13.53 % y 16.86 %), fibra dietética total (13.97 % y 13.30 %) y β -glucanos (4.68 % y 4.60 %); sin embargo, la adición de la cebada impactó negativamente en las dimensiones del producto y en la formación de la estructura de la miga ya que el PT mostró las mejores características; observando cambios igualmente en los atributos de sabor y textura, por otro lado la adición de gluten mejoró las características antes mencionadas. En conclusión esta variedad de cebada obtuvo un alto rendimiento, aumentando el porcentaje de cenizas, proteína, fibra y β -glucanos en el pan mejorando la composición nutricional, sin embargo la adición afectó la estructura de la miga y los atributos de sabor y textura, por lo que podría ser un alternativa para aumentar el consumo de fibra total y β -glucanos en la población.

Palabras clave: β -glucanos, cebada, harina, pan, miga.

ABSTRACT

Forage barley (*Hordeum vulgare*) is an annual crop plant, it has an important dietary fiber content, especially soluble fiber, mainly by β -glucans. The objective of the present study was to develop and characterize a fermented *bolillo* type bread added with forage barley flour by a conventional method in order to obtain a product with a high content of β -glucans and adequate sensory characteristics. The investigation was carried out in three steps, the first obtaining barley flour and a characterization of the flours. The elaboration of bread formulations of 100% wheat (PT), 50 % wheat / barley (P50), 25 % wheat / 75 % barley (P75), 100 % barley (P100), 90 % barley with gluten added (10 %) P90; performing the characterization of the breads samples (proximal chemical analysis, total dietary fiber, β -glucans, sodium chlorides, crumb structure analysis and product dimensions). Finally, sensory evaluation and weight loss were performed during the 48 hours of storage. Integral barley flour was obtained with a yield of 90.92 %, showing a higher percentage of moisture (13.25 %), ashes (1.52 %), proteins (10.66 %), fats (1.98 %), total dietary fiber (12.29 %) and β -glucans (5.71 %) compared with wheat flour. The bread samples with the highest percentage of barley flour (P100 and P90) had higher percentages of ashes (2.38 % and 2.34 %), protein (13.53 % and 16.86 %), total dietary fiber (13.97 % and 13.30 %) and β -glucans (4.68 % and 4.60 %); however, the addition of barley had a negative impact on the dimensions of the product and on the formation of the crumb structure, since showing on the flavor and texture attributes, on the other hand the addition of gluten improved the previous characteristics. In conclusion, this variety of barley showed a high yield, increased the percentage of ashes, protein, fiber and β -glucans in the bread improving the nutritional composition, the addition affected the crumb structure and the attributes of flavor and texture so it could be an alternative to increase the consumption of total fiber and β -glucans in the population.

Keywords: β -glucans, barley, flour, bread, crumb.

1. MARCO TEÓRICO

1.1. *Generalidades de la cebada forrajera*

Los cereales forman parte de la familia de las plantas gramíneas y se cultivan para recolectar el grano que producen. Históricamente ha sido una de las principales fuentes de alimentación de la humanidad, formando incluso parte de la cultura de cada pueblo ya que el cultivo de algún cereal específico se daba por las características del territorio y clima (Dorwin, 2008; Arranz-Otaegui *et al.*, 2018).

Hace 12.000 ó 14.000 años, los primeros agricultores comenzaron a sembrar y seleccionar las semillas de trigo y cebada en base a su tamaño y su facilidad de manejo. Poco a poco, estos fueron extendiendo estas semillas por toda Asia occidental y central, Europa y el norte de África (Heinrich y Reinhart, 2007). Durante épocas muy antiguas se prefirió la cebada, debido a su fácil cultivo, de hecho, se sabe que la cebada estaba íntimamente ligada a los ritos religiosos y celebraciones del antiguo Egipto, donde se usaba como ofrenda a los dioses y en funerales. Con la aparición del trigo y su distribución en todo el mundo, fue sustituido el uso de la cebada por el trigo debido a que presentó mejores características sensoriales en la elaboración del pan (Dorwin, 2008; Arranz-Otaegui *et al.*, 2018), además de que muestra un mayor rendimiento y mayores aplicaciones tecnológicas e industriales (Greene, 2003).

La cebada forrajera (*Hordeum vulgare*) es una planta monocotiledónea, perteneciente a la familia de las *Poaceae*, tribu *Triticeae*, de cultivo anual, es un cereal de gran importancia para el consumo humano (Newman y Newman, 2008).

Este cereal (*Hordeum vulgare*) es originario de Asia occidental y África nororiental descende de la cebada silvestre (*Hordeum spontaneum*), se piensa que fue una de las primeras plantas domesticadas en la agricultura (Newman y Newman, 2008).

Es un cereal considerado como revestido, ya que presenta una capa llamada gluma que protege a la carióspside, es muy versátil, se adapta a terrenos poco fértiles, a distintas alturas y a diversas condiciones de humedad, tiene la peculiaridad de

presentar un alto contenido de β -glucanos, el cual está determinado por condiciones geo-climáticas (INIFAP, 2010; Pizarro *et al.*, 2014) y especialmente el calor y sequía durante la maduración del grano, producen un incremento en los niveles de β -glucanos (Andersson *et al.*, 1978; Volman *et al.*, 2010).

1.2. Producción de cebada en México

La producción de cebada en México dado por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), informó que durante el 2017, aumentó un 33.4 % ocupando el primer lugar internacional de comercialización, también señala que Hidalgo es el segundo estado con mayor producción de este cereal, por otro parte se registra que del total de producción la mayoría es cebada maltera, sin embargo, el 20 % de la producción es de cebada forrajera en el estado, además SAGARPA (2017) reconoce que este tipo de cebada es muy recomendable para el consumo humano por sus propiedades terapéuticas y nutricionales, con gran aporte de proteína pero bajo contenido de gluten. También el país y estado siguen generando nuevas estrategias para aumentar la producción y calidad de este cereal (SAGARPA, 2017).

1.3. Taxonomía y morfología

Existen muchas variedades de cebada, todas se caracterizan por presentar tallos huecos en forma de caña que nacen de raíces fasciculadas (Figura 1 A). Al final de cada tallo, se desarrolla una inflorescencia en forma de espiga donde se formarán los granos de cebada. Cada espiga consta de un eje principal o raquis sobre las que se distribuyen lateralmente las glumas que nacen directamente del raquis (Figura 1 B) (Newman y Newman, 2008).

El grano de cebada presenta tres estructuras principales: el salvado, endospermo y el germen. El fruto de cebada se considera un grano revestido, por lo que posee glumas o glumillas, es decir, una envoltura que no forma parte de la carióspside sirve de protección para el grano; se utiliza para la alimentación humana, como materia prima para la alimentación animal, la obtención de la malta, la fabricación de cerveza y en la elaboración de whisky (UNAM, 2013).

Debajo de las glumillas se encuentran los verdaderos tegumentos del grano, el salvado que está compuesto del tegumento exterior denominado pericarpio, testa y la capa hialina; tegumentos que están formados por varias capas de células. Estructuras que son eliminadas normalmente durante la limpieza, acondicionamiento y molienda, estas capas son caracterizadas por presentar un alto contenido de fibra y cenizas, además de conferir el color característico de algunos granos (Newman y Newman, 2008; Blandino *et al.*, 2015).

El endospermo está compuesto por la capa de aleurona y el endospermo almidonoso; cuya función principal de la aleurona es ser la fuente de enzimas durante la germinación, aportando nutrientes como vitaminas, minerales, proteínas. En el caso del endospermo representa alrededor del 76% del grano, además de ser la reserva de nutrientes para la germinación, aportando principalmente almidón (Fan *et al.*, 2019).

En relación al germen está compuesto por el embrión y escutelo, estructura que almacena nutrientes para el embrión, se caracteriza por su alto contenido de aceite, azúcares solubles y ceniza (UNAM, 2013).

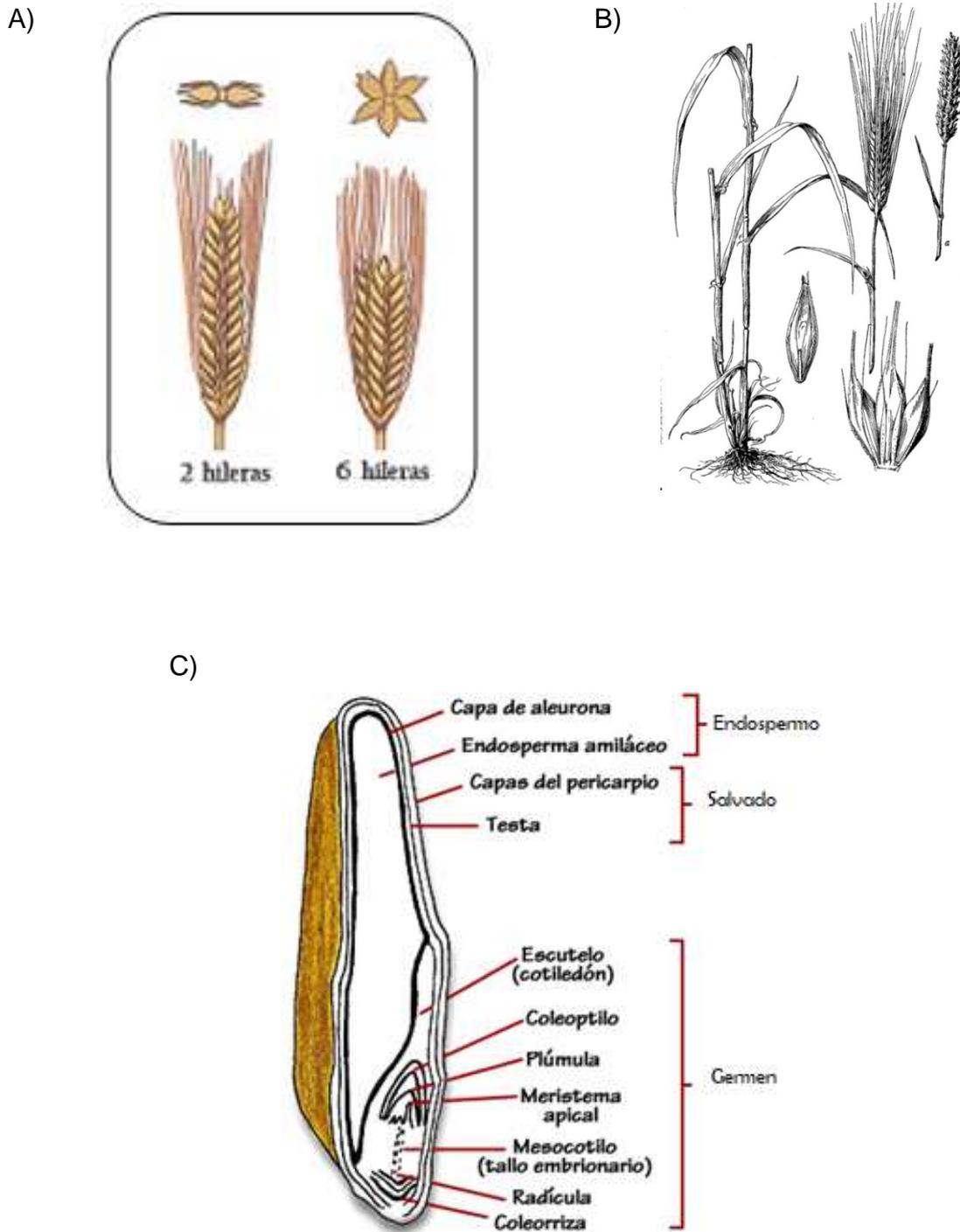


Figura 1. Morfología y taxonomía de la cebada.

Figura 1 A) Espiga de especies *Hordeum distichum* L. (de dos hileras) y *Hordeum vulgare* L. (de seis hileras). B) Partes de la planta de cebada. Izquierda: raíces, tallo, hojas. Centro: el núcleo del grano. Superior derecha: Cabeza y brazo de la espiga. Inferior derecha: espiga. C) Partes del grano de cebada. Adaptado de: Newman y Newman, 2008; UNAM, 2013.

1.4. Composición nutrimental de la cebada

La cebada contiene hidratos de carbono, proteínas, grasas, fibra, minerales (Tabla 1), donde destacan aminoácidos como la lisina, leucina, fenilalanina y valina (Holopainen-Mantila, 2015); en relación a los ácidos grasos son insaturados principalmente oleico, linoleico, ácido palmítico que es principal ácido graso saturado (Serna, 2013), además de la presencia de minerales como el potasio, magnesio, fósforo, hierro, azufre, cobre, cinc, manganeso, cromo, selenio, yodo, molibdeno principalmente, vitaminas del grupo B, tiamina, riboflavina, ácido fólico, niacina y piridoxina (Serna, 2013; Holopainen-Mantila, 2015); cuando se conserva el salvado tras la molienda, se considerará integral el cual tiene mayor contenido de nutrientes, ya que contiene más partes de la periferia de la cariósida (Newman y Newman, 2008).

Tabla 1. Composición típica de la cebada (g/Kg)

Componente	Grano entero sin gluma	Harina
Carbohidratos	81.4	60.9
Almidón	58.2	57.9
Azúcares	3.0	2.3
Fibra	20.2	0.7
Proteínas	13.7	9.2
Lípidos	2.2	1.7
Ceniza	2.7	1.2

Adaptado de: Newman y Newman 2008

La cebada es un cereal con un adecuado contenido de fibra; especialmente soluble, el cual está representado principalmente por los β -glucanos, con concentraciones de 2-20 g por 100 g de peso seco. Estas variaciones dependen del cultivar y de factores abióticas (Newman y Newman, 2008). Los β -glucanos están distribuidos en toda la aleurona y endospermo como componente estructural de la pared celular en la mayoría de la cebada (Bacic *et al.*, 2009).

1.4.1. Fibra dietética

La fibra dietética se reconoce como un elemento importante para la nutrición sana. No existe una definición universal ni tampoco un método analítico que mida todos los componentes alimentarios que ejercen los efectos fisiológicos de la fibra. Se podría indicar que la fibra es una sustancia de origen vegetal, hidratos de carbono o derivados de los mismos excepto la lignina que resisten la hidrólisis por las enzimas digestivas humanas, llegan intactos al colon donde algunos son hidrolizados y fermentados por la microbiota colónica (Escudero y González, 2006; Nicklas *et al.*, 2011; Miller, 2014).

La ingesta diaria recomendada de fibra dietéticas es de 25-30 g al día (Dietary Guidelines for Americans 2015; FAO/OMS 2018). De acuerdo con la Norma Oficial Mexicana (NOM-043-SSA2-2012) la fibra dietética es la parte comestible de las plantas o hidratos de carbono análogos resistentes a la digestión y la absorción en el intestino delgado humano y que sufre una fermentación total o parcial en el intestino grueso. En México, los adultos consumen entre 16 y 18 g de fibra al día, una cantidad mucho menor a la recomendada, de ahí la importancia de aumentar el consumo de la fibra dietética (Secretaría de Salud, 2016).

La fibra dietética puede ser clasificada de acuerdo a su solubilidad en agua como solubles e insolubles y sus propiedades y efectos fisiológicos están determinados principalmente por las proporciones que guardan estas dos. En relación a la fibra solubles se encuentra la siguiente clasificación: celulosa, β -glucanos, hemicelulosa, gomas, mucílagos, pectinas y análogos (Escudero y González 2006; Miller, 2014).

Los β -glucanos son un tipo de fibra soluble a los cuales se le han atribuido múltiples funciones biológicas sobre la glucemia, niveles de insulina, colesterol y la inmunidad (Andersson *et al.*, 2009).

1.4.2. β -glucanos

Los β -glucanos son polisacáridos lineales de glucosa unidos a través de enlaces β -(1 \rightarrow 3) y β -(1 \rightarrow 4) y que pueden presentar ramificaciones (Lazaridou y Biliaderis,

2007). Estos polisacáridos se clasifican dentro de la fibra dietética soluble, no son digeribles en intestino delgado por la falta de enzimas pancreáticas (Wood, 2007).

Cereales como la cebada y la avena son reconocidos como buenas fuentes de β -glucanos, pero también se pueden encontrar en algas, hongos y levaduras, por lo que la fuente de origen determinará los efectos fisiológicos (Pizarro *et al.*, 2014).

Aquellos provenientes de cereales se les ha atribuido propiedades beneficiosas de tipo metabólico (Pizarro *et al.*, 2014). Sus propiedades parecen estar relacionadas con su peso molecular, estructura química y características reológicas, las cuales pueden variar según el origen del β -glucanos (Volman *et al.*, 2010).

Los β -glucanos de avena y cebada (Figura 2 A) están compuestos de cadenas no ramificadas con enlaces β (1 \rightarrow 3) y β (1 \rightarrow 4), mientras que los β -glucanos de levaduras y hongos (Figura 2 B), están compuestos de cadenas de glucosa unidos por enlaces β (1 \rightarrow 3) y cadenas laterales unidas por enlaces β (1 \rightarrow 6) (Volman *et al.*, 2010).

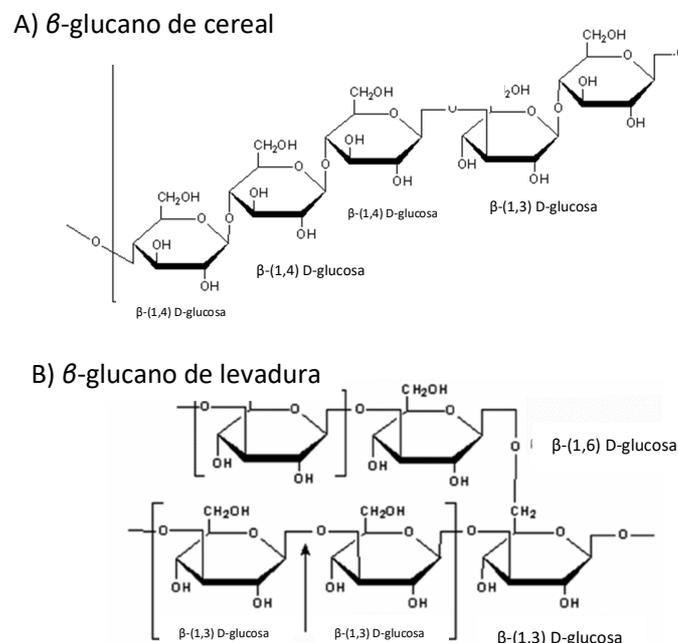


Figura 2. Estructura de β -glucanos de cereal y levadura.

Figura (2 A) y de levadura (2 B). (A): Unidades poliméricas de β -(1-4)-D-glucopiranosil β -(1-3)-D-glucopiranosil. (B): Unidades poliméricas de β -(1-3)-D-glucopiranosil con ramificaciones en β -(1-6). Adaptado de: Volman *et al.*, 2010.

Los β -glucanos se encuentran concentradas en las paredes celulares del endospermo, cuyo desarrollo es dependiente de las condiciones geoclimáticas; estas, por lo tanto, inciden en el contenido de β -glucanos del cereal. Este es regulado por la enzima β -glucanos endohidrolasa (1 \rightarrow 3, 1 \rightarrow 4), también conocida como liquenasa o 1 \rightarrow 3, 1 \rightarrow 4 β -glucanasa, cuya función es promover la degradación de la pared celular del endospermo durante la germinación (Newman y Newman, 2008). Entre los cereales que poseen mayor contenido de β -glucanos (en g por 100 g de peso seco), está la cebada (2-20 g, con 65 % hidrosoluble), seguida por la avena (3-8 g, con 82 % hidrosoluble), otros cereales también lo contienen, pero en cantidades mucho menores (Bacic *et al.*, 2009).

Las propiedades funcionales de los β -glucanos, han sido atribuidas en particular al hecho que forman soluciones viscosas en solución acuosa (Pizarro *et al.*, 2014). Esta viscosidad hace que los β -glucanos retrasen el vaciamiento gástrico, e interfieran con el contacto entre las enzimas pancreáticas y sus substratos en el lumen intestinal, frenando los procesos de digestión y absorción de los nutrientes, sin embargo, estas funciones biológicas de los β -glucanos dependen tanto de la fuente así como, su estructura macromolecular (Wood, 2007).

A. Antecedentes de propiedades funcionales de los β -glucanos

Se han realizado diversos estudios de los β -glucanos y sus efectos en la salud, la Food and Drug Administration (FDA, 2018) identifica a la fibra soluble de β -glucanos como carbohidratos no digeribles con beneficios fisiológicos. En la Tabla 2 se puede observar una recopilación de distintas investigaciones donde se identifica el tipo de alimentos que se proporciona, la dosis de β -glucanos y las funciones biológicas únicamente en humanos como la reducción del colesterol sanguíneo, disminuyendo el riesgo del desarrollo de cardiopatías coronarias en el individuo, señalando un consumo de mínimo de 3 g/día de β -glucanos de forma regular.

Por otro lado, no se han encontrado estudios concluyentes que reporten algún efecto adverso en el consumo de una dieta rica en β -glucanos de cebada y avena.

Tabla 2. Recopilación de investigaciones con productos con contenido de β -glucanos derivados de avena y cebada.

Muestra (n)	Duración del estudio (semanas)	Cantidad de β -glucano (g/día) consumido	Producto de intervención /control	Parámetros evaluados	Cambios significativos	Referencia
24	2	7.6	-Dieta más salvado de avena. -Dieta baja en fibra.	Lípidos sanguíneos -CT	Si ↓	Kristensen y Bugel, 2011.
12	Sin datos	6.2	-Granola de avena (Alto PM).	-Glucosa postprandial en área de la curva.	Si ↓	Regand <i>et al.</i> , 2011.
		6.2	-Granola de avena (PM medio).	-Índice glucémico		
		6.3	-Granola de avena (Alto PM).			
12	Sin datos	8.6	-Cereal de salvado de avena (Alto PM).			Brummer <i>et al.</i> , 2012.
		8.3	-Cereal de salvado de avena (PM medio).			
		8.7	-Cereal de salvado de avena (PM medio).	-Glucosa postprandial en área de la curva.	Si ↓	
		8.4	-Cereal de salvado de avena (PM medio).	-Índice glucémico		
		3.8	-Extracto de avena.			
		7.4	-Harina de cebada.			
		5.2	-Extracto de cebada.			
62	6	3.2	-Salvado de Avena. -Dieta sin β -glucanos.	Lípidos sanguíneos -CT -LDL	Si ↓	Charlton <i>et al.</i> , 2012.
182	6	3.3	-Cereales instantáneos de avena. -Noodles de trigo.	Lípidos sanguíneos -CT -LDL -HDL	Si ↓	Zhang <i>et al.</i> , 2012.

Continuación de Tabla 2. Recopilación de investigaciones con productos con contenido de β -glucanos derivados de avena y cebada.

10	Sin datos	3	-Bebida de grano entero de cebada.		Si ↓	Aldughpassi <i>et al.</i> , 2012.
		3.1-4	-Pasta de grano entero.		No	
			-Bebida de grano entero de cebada.		Si ↓	
		4.1-5	-Bebida de cebada en perla.		Si ↓	
			-Bebida de grano entero de cebada.		Si ↓	
			-Pasta de grano entero.	Glucosa postprandial en área de la curva.	No	
		-Pasta de cebada.	No			
		-Bebida de grano entero de cebada.	Si ↓			
		5.7	-Bebida de grano entero de cebada.		Si ↓	
8.4	-Bebida de grano entero de cebada.		Si ↓			
8.9	-Bebida de cebada en perla.		Si ↓			
14	3	3.3	-Avena. -Dieta control.	Lípidos sanguíneos -CT -LDL	Si ↓	Ibrügger <i>et al.</i> , 2013.
24	8	3	-Cereales de avena. -Cereales de arroz.	Lípidos sanguíneos -CT -LDL	Si ↓	Thongoun <i>et al.</i> , 2013.
98	12	4.4	-Cebada alta en β -glucanos. -Cebada libre de β -glucanos.	-Circunferencia de cintura -Peso corporal -IMC	Si ↓	Aoe <i>et al.</i> , 2017.

PM: Peso molecular, CT: Colesterol total, LDL: lipoproteínas de baja densidad, IMC: Índice de masa corporal.

Se han realizado múltiples estudios sobre el efecto de los β -glucanos en los niveles de colesterol, que establece el consumo de β -glucanos de cebada y avena mejoran significativamente el colesterol LDL y el colesterol total en pacientes con dislipidemia y sanos (Ruiz *et al.*, 2011; Rondanelli *et al.*, 2011; Aparicio y Ortega, 2016; Ho *et al.*, 2016).

Se han propuesto diversos mecanismos por los que el β -glucanos podría ejercer su efecto reductor, como otras fibras solubles, que forma geles viscosos en el tracto

gastrointestinal y puede disminuir la absorción del colesterol dietético y la reabsorción de los ácidos biliares. La inhibición de la reabsorción de los ácidos biliares aumenta la síntesis de estos ácidos biliares a partir del colesterol sanguíneo, disminuyendo así la cantidad de colesterol LDL sérico (Hartvigsen *et al.*, 2014; Pizarro *et al.*, 2014).

Por otro lado, la disminución de los ácidos biliares a nivel hepático puede aumentar la actividad de la enzima colesterol 7- α hidroxilasa, lo que podría producir un incremento de la síntesis de ácidos biliares a partir del colesterol hepático, así como aumentar la síntesis de los receptores hepáticos para las LDL y verse disminuida la circulación sanguínea de las mismas. Además, la disminución del colesterol hepático puede estimular la actividad de la enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductasa, lo que podría provocar un aumento de la síntesis de colesterol en sangre y contribuir a reducir las LDL circulantes (Hartvigsen *et al.*, 2014; Aparicio y Ortega, 2016).

En cuanto a las reducción de peso corporal, índice de masa corporal (IMC) y área de grasa visceral, se han reportado una disminución significativa, sin embargo dependerá del producto administrado (Brummer *et al.*, 2012; Aoe *et al.*, 2017)

En relación a la actividad de los β -glucanos sobre la glucosa y la respuesta a la insulina, se ha demostrado que los alimentos de avena y cebada reducen la respuesta glucémica en comparación con alimentos de trigo similares, dicha acción fisiológica se lleva acabo con el consumo preferentemente de 4 g de β -glucanos en alimentos procesados, teniendo impacto en la glucosa postprandial e insulina el cual resulta mejor utilizando el cereal con el salvado; sin embargo, los resultados varían del tipo de producto que se administra; es decir, bebidas, pastas, cereal o pan (Brummer *et al.*, 2012; Tosh, 2013).

La variación entre el tipo de producto se atribuye a distintos factores, al utilizar el grano entero y en crudo, las paredes celulares del grano puede actuar como barrera física para la degradación del almidón por las enzimas, evitando una correcta absorción; el contenido de humedad del producto, sigue una mejor solubilidad del

β -glucanos y mayor accesibilidad para la digestión; en productos fermentados, se sugiere una degradación parcial del β -glucanos por la β -glucanasa, entre otros factores (Lazaridou y Biliaderis, 2007; Tosh, 2013; Aparicio y Ortega, 2016).

En relación a la reducción de la glucosa postprandial, se atribuye a la alta viscosidad de la formación de gel en el tracto intestinal, disminuyendo la absorción de glucosa, reduciendo también la digestión del almidón por la α -amilasa, debido a la matriz de gel, así como limitando el agua disponible para la hidratación del almidón; otro mecanismo que se ha discutido es por la formación de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), metabolitos producidos por la fermentación de β -glucanos en el colon, sin embargo, aún no ha sido definido con claridad el mecanismo de acción (Lazaridou y Biliaderis, 2007; Tosh, 2013).

1.5. Usos

En algunos países del Cercano Oriente, del norte de Europa (como Finlandia), América del Sur (como Colombia, Perú y Ecuador) la cebada se utiliza como alimento para consumo humano, como una harina a base de cebada tostada y molida (máchica) que se usa en bebidas, sopas, como sustituto de arroz y se adiciona a algunos panes principalmente en la región andina (Basman y Köksel, 2001; Holopainen-Mantila, 2015). También se elaboran bebidas no alcohólicas o ligeramente alcohólicas, como el kvas, agua de cebada, cerveza, para destilar en la fabricación de whisky escocés y de ginebra holandesa y otra pequeña proporción se destina para la alimentación animal (Holopainen-Mantila, 2015).

1.6. Pan

El pan (del latín *panis*), en sus múltiples formas, es un alimento básico ampliamente consumido por la humanidad, formando parte de la dieta tradicional en Europa, Medio Oriente, India, América y Oceanía (Hensperger *et al.*, 2002). Se suele preparar mediante el horneado de una masa, elaborada fundamentalmente con harina de cereales principalmente de trigo, sal y agua. La mezcla, en la mayoría de las ocasiones, suele contener levaduras para que fermente la masa observándose las características de textura, olor y aroma esperadas en el pan (NMX-F-406-1982).

La variedad de panes en la culinaria mundial es muy grande debido en gran parte a las variantes en los procesos de su elaboración, a las tradiciones culinarias, a la disponibilidad de los diferentes tipos de cereales, a las formas impresas a sus masas, a la ausencia de uno de sus ingredientes, por lo que sus características sensoriales varían dependiendo su tipo (Flores, 2001).

La Norma Mexicana 516 (1992) establece la clasificación y definiciones de los productos de panificación, las definiciones se muestra a continuación:

- ✿ Pan blanco, bolillo y telera: son productos alimenticios cocidos por horneado de la masa fermentada, elaborada con harina de trigo, agua potable, sal yodatada, azúcar, levadura, ingredientes opcionales y aditivos alimentarios permitidos por la Secretaría de Salud.
- ✿ Productos de bollería: son los productos cocidos por horneado de la masa fermentada, preparados con harina de trigo, agua potable, sal yodatada, azúcares, grasas comestibles, levadura, ingredientes y aditivos alimentarios opcionales permitidos por la Secretaría de Salud.
- ✿ Pan de harinas integrales: son los productos alimenticios cocidos por horneado de la masa fermentada preparados con harina de cereales y/o leguminosas y otro cereal o harina tal como avena, harina integral de centeno, harina de trigo integral, etc; agua potable, sal yodatada, azúcares, grasas comestibles, levadura, ingredientes y aditivos alimentarios opcionales permitidos por la Secretaría de Salud.

El bolillo, pan blanco o pan francés es, en México, Guatemala, Salvador y Centroamérica, un tipo de pan económico y bastante popular elaborado con harina de trigo, que no es considerado dulce. Tiene unos quince centímetros de largo y forma ovalada con un corte longitudinal en la parte superior, por afuera es dorado y crujiente, por dentro es blanco y suave (NMX-F-406-1982), a esta parte se la conoce como migajón. El bolillo es el pan que se utiliza para preparar los molletes y las tortas mexicanas. A veces, a la masa del bolillo se le da la forma de un pan en tres cuerpos, que comercialmente se le da el nombre de telera.

1.6.1. Consumo de pan en México

La alimentación como concepto es una forma natural y simple de la ingesta de alimentos que proveen al organismo energía y nutrientes para desarrollar actividades físicas de manera normal, sin embargo en el caso de los humanos, va más allá del valor biológico, ya que la alimentación incluye un conjunto de características socioculturales y económicas que conllevan a una clasificación de los alimentos más compleja generalmente expresada en términos de patrones y de hábitos alimentarios (Camberos, 2000; Ortíz *et al.*, 2005). En México, el acelerado proceso de urbanización a partir de la década de los cincuenta y una mayor apertura externa de la economía desde los noventa del siglo pasado, ha permitido la introducción de diversos alimentos. El pan de trigo, por tanto, ha comenzado a tener gran importancia en el consumo de los mexicanos, ya que ha demostrado ser un producto de gran versatilidad e innovación que se ha adaptado a las nuevas exigencias, sin bien claramente, no es un sustituto de la tortilla de maíz, pero se ha introducido ampliamente en la dieta (Torres, 2007).

En la actualidad, se estima que la población mexicana consume alrededor de 33 kg de pan al año, donde el pan de mayor preferencia por las personas es el dulce (89 %), seguido del pan tipo bolillo o telera (69 %). De acuerdo a la Cámara Nacional de la Industria Panificadora (CANAINPA), en México hay más de mil tipos de pan, incluso más variedad que en otros países de consumo alto, esto ya que se deriva de las formas y presentaciones de cada estado, ligadas a las festividades (CANAINPA, 2015). A su vez, la CANAINPA realiza distintas acciones con el fin de promover el consumo de pan en México, como la Feria de la torta en el 2010, la Feria internacional de la industria del Pan (mexipan), la Monumental rosca de reyes entre otras actividades que buscan aumentar el consumo.

2. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

Actualmente, la población mexicana se ha visto afectada por un conjunto de problemas de salud, principalmente originados por los nuevos estilos de vida aunados a una mala alimentación, por lo que la industria alimentaria y sector salud se han visto obligados a innovar y elaborar productos funcionales que ofrezcan una opción de consumo que beneficie o disminuya dichos problemas de salud, sin dejar a un lado los aspectos nutricionales, sensoriales y conservación.

Los estudios con β -glucanos se han hecho principalmente en cereales como la avena y en los últimos años con cebada maltera; se sabe que la cebada forrajera, cereal poco consumido en México, contiene un mayor porcentaje de β -glucanos en comparación con la avena y cebada maltera. A escala nacional, Hidalgo es el segundo estado con mayor producción de cebada, sin embargo, la producción y consumo se basa en la maltera (elaboración de cerveza); por su parte la cebada forrajera tiene poca demanda como alimento, destinándose a la alimentación del ganado.

Es importante evaluar la incorporación de cebada forrajera, con alto contenido β -glucanos, a un alimento como el pan, producto alimenticio que es parte de la canasta básica, de fácil acceso y de buena aceptación por la población, el cual ha sido poco estudiado, determinado sus características fisicoquímicas y sensoriales.

3. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad a surgido el interés por el estudio de la fibra, especialmente alguno de sus componentes como los β -glucanos, diversas investigaciones mencionan las propiedades fisiológicas de los β -glucanos, entre las que destacan la capacidad de disminuir niveles de glucosa y lípidos séricos, teniendo un efecto benéfico en algunas enfermedades crónicas-degenerativas, como hipercolesterolemia, diabetes, así como enfermedades cardiovasculares.

El consumo recomendado de β -glucanos es de al menos 3 g para observar cambios en los niveles plasmáticos de lípidos y glucosa, la cebada como fuente de β -glucanos dependiendo de la variedad, puede proveer de 2-20 g, por lo que integrar la cebada forrajera, producida en el estado, permitiría desarrollar un alimento funcional (pan) que pudiera tener un efecto al disminuir significativamente el colesterol LDL-C, colesterol total, IMC, área de grasa visceral, glucosa e índice glucémico como coadyuvante del tratamiento dietético en el paciente con enfermedades crónicas-degenerativas.

4. OBJETIVOS

4.1. *General*

Desarrollar y evaluar las características fisicoquímicas-sensoriales de un pan fermentado tipo bolillo, adicionado con harina de cebada forrajera mediante un método convencional con el fin de obtener un producto con alto contenido de β -glucanos.

4.2. *Objetivos específicos*

- Obtener la harina de cebada forrajera mediante molienda seca para determinar del rendimiento.
- Evaluar la composición químico proximal, contenido de fibra dietética total y β -glucanos de las formulaciones de harina de trigo y cebada forrajera.
- Determinar la composición químico proximal, contenido de fibra dietética total y β -glucanos de los panes elaborados con diferentes formulaciones de harina de trigo y cebada forrajera.
- Determinar propiedades fisicoquímicas: cloruros de sodio, análisis dimensional y estructural de miga en las formulaciones de pan.
- Evaluar cambios en parámetros sensoriales (olor, color de corteza y de miga, sabor, textura) y de peso durante el periodo de almacenamiento.

5. DISEÑO METODOLÓGICO

5.1. *Desarrollo metodológico*

La investigación se realizó en tres etapas (Figura 3), la primera fase consistió en la obtención de la harina de cebada a utilizar, a partir del grano entero proporcionado por Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias Hidalgo (INIFAP). Para la elaboración de la harina, se acondicionó y se molió (QCG-Systems LLC, 4E, USA) y tamizó (500 μm), calculando rendimientos de extracción de harina. Seguido de la formulación de harinas, utilizando como control una harina de trigo comercial para panificación (HT) y combinaciones de esta con harina de cebada forrajera, las cuales se enlistan a continuación:

- H25: harina 75 % trigo/ 25 % cebada
- H50: harina 50 % trigo/ 50 % cebada
- H75: harina 25 % trigo/ 75 % cebada
- H100: harina 100 % cebada

Posteriormente se realizó una caracterización de las formulaciones de harinas, que consistió en el análisis químico proximal (humedad, cenizas, proteínas, grasas y carbohidratos totales), además del contenido de fibra dietética total y β -glucanos.

En la segunda etapa se elaboró el pan, utilizando las formulaciones de harinas que cubrieron la concentración de β -glucanos ≥ 3 g, descartando la de menor porcentaje de cebada (H25), también se realizó una muestra control (PT); en la tabla 3 se muestran las abreviaturas para cada formulación de pan.

Tabla 3. Listado de formulaciones.

Nombre de la formulación	Combinación de harinas en formulaciones de pan	
Pan	PT	100 % trigo
	P50	50 % trigo/ 50 % cebada
	P75	25 % trigo/ 75 % cebada
	P100	100 % cebada
	P90	90 % cebada/ 10 % de gluten de trigo
	P25*	75 % trigo/ 25 % cebada

*Muestra incluida para la evaluación sensorial y pérdida de peso

El pan fue elaborado por el método convencional de esponja-masa; caracterizó mediante la determinación de la composición química proximal, fibra dietética total, β -glucanos, cloruros de sodio, análisis dimensional y estructural de la miga.

Finalmente se realizó la evaluación sensorial y pérdida de peso, durante 48 horas de almacenamiento.

En la Figura 3 se muestra el diseño metodológico general de esta investigación.

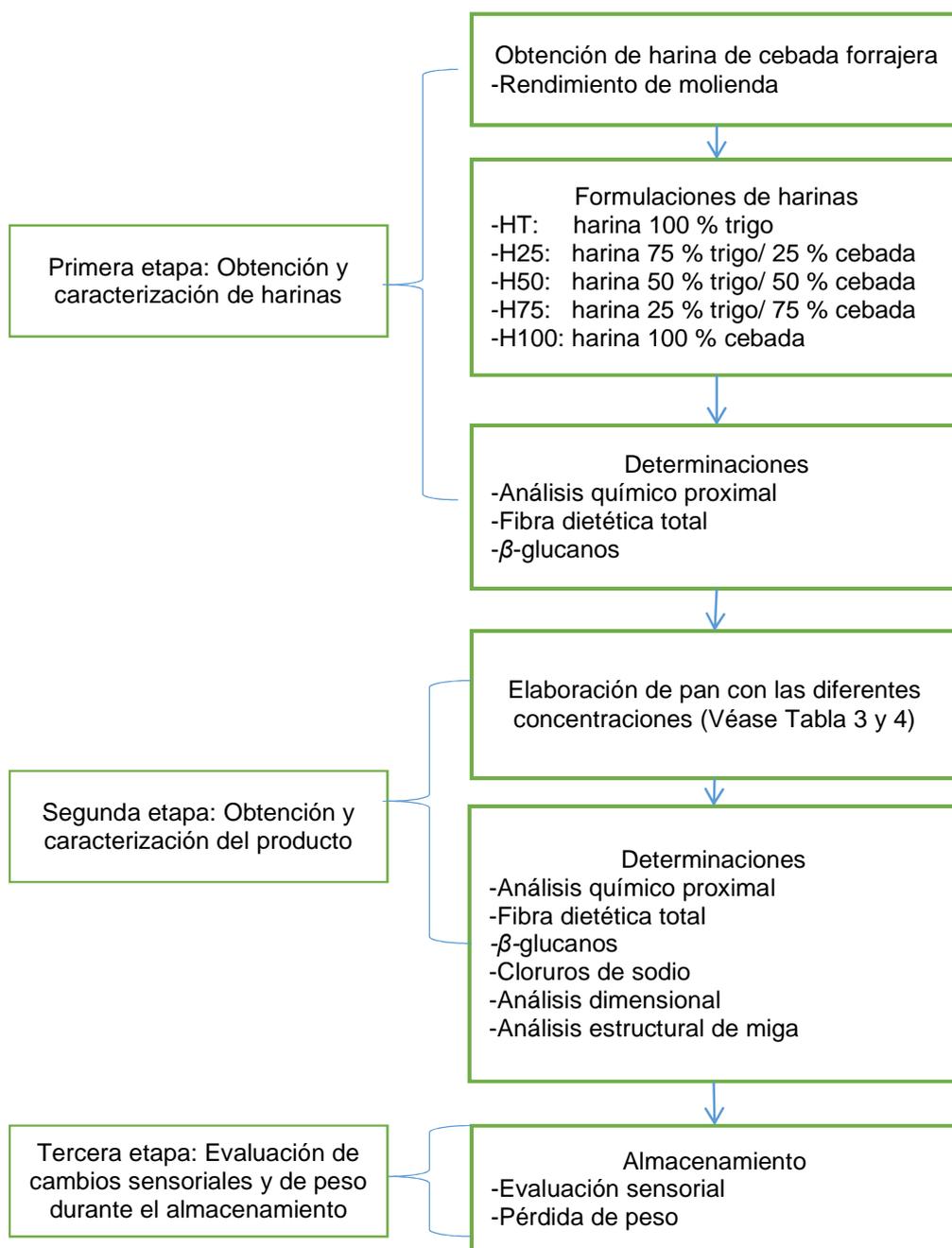


Figura 3. Diseño metodológico general

A continuación se describen las técnicas que se utilizaron en la metodología:

5.2. **Obtención y caracterización de harinas**

La materia prima para realizar la harina, fue la cebada forrajera proporcionada por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias Hidalgo (INIFAP), denominada “forrajera Maravilla”, registrada en el Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS-SAGARPA) como CEB-014-170316 (Zamora, *et al.*, 2017), el grano fue promocionado del lote 2017.

5.2.1. **Obtención de harina de cebada**

Se obtuvo la harina en 3 ocasiones con 2.5 Kg de grano de cebada por la cantidad de harina necesaria para todo el producto elaborado y las distintas determinaciones. Para la obtención de la harina de cebada se realizó el primer paso del proceso de molienda; el descascarillado, esto con el fin de eliminar las glumas, para lo cual se utilizó una licuadora comercial (Oster, 890-16M, México), posteriormente se limpió el grano.

A. Acondicionamiento de humedad

Se continuó con la molienda del grano por lo que se acondicionó a un 17 % de humedad, para lo cual se determinó la humedad inicial del grano descascarillado de acuerdo al método oficial de la AOAC 920.151 (1984), (determinación que se explica a detalle en la sección de la caracterización de la harina). Posteriormente la harina se colocó en un recipiente de cierre hermético y se la agregó el agua necesaria para alcanzar el 17 % de humedad con un reposo de 12 horas, se rectificó la humedad por el método antes mencionado para humedad. La fórmula que se utilizó para acondicionar el grano a una humedad del 17 % en 100 g de materia seca fue:

(Ec. 1)

$$X = \left[\frac{Hf (100 - Hi)}{(100 - Hf)} \right] - Hi$$

Dónde:

X = Cantidad de agua (mL) por cada 100 g (%)

Hf = Humedad requerida (%)

Hi = Humedad inicial (%)

B. Porcentaje de rendimiento

Al obtenerse el grano ya acondicionado, se prosiguió a la molienda con un molino de platos (QCG-Systems LLC, 4E, USA), lo que permitió la obtención de harinas y sémolas de diferente granulometría. Se pasó el grano de 8-10 veces por el molino (QCG-Systems LLC, 4E, USA), se tamizó (Tyler, 5202, USA) a un tamaño de partícula de 500 µm, obteniéndose finalmente la harina de cebada, de igual manera se obtuvieron los datos de rendimiento del grano entero, con el descascarillado y al obtener la harina, mediante la siguiente formula:

(Ec. 2)

$$\% R = \frac{(PM * 100)}{PG}$$

Dónde:

%R= porcentaje de rendimiento

PM = peso del grano después del descascarillado o peso de la harina (g).

PG = peso del grano entero antes de ser descascarillado y molido (g).

5.2.2. Caracterización química de la harina de cebada y trigo

Se realizó la combinación de las distintas harinas de trigo y cebada, como se describió en el apartado 5.1., se realizó el análisis químico proximal para determinar la composición de la harina de trigo comercial, las formulaciones y la harina de cebada obtenida para el estudio; además de la determinación de fibra dietética total y β-glucanos, apoyándose por los métodos establecidos por la AOAC, se describen las determinaciones a continuación.

A. Análisis químico proximal

i. Determinación de humedad

Se realizó de acuerdo al método de secado en estufa por el Método Oficial de la AOAC 920.151 (1984), esta prueba se basa en la medición total del contenido de agua de la muestra. Se obtuvo el peso constante de charolas de aluminio en la báscula analítica (Adventure, AR1140, China), se colocaron en el horno de secado

(Scorpion Cientific, 168242, México) a 105°C por una hora, se registró el peso y posteriormente se tararon, se pesó una alícuota de muestra (1 g de grano, harina o pan), se continuo introduciendo al horno de secado a 105°C por 3 horas hasta que se sacó su peso constante. Por último, se pesó la charola con la muestra y se calculó por diferencia de peso, utilizando la siguiente fórmula:

(Ec. 3)

$$\%H = \left[\frac{(Pi - Pf)}{Pi} \right] * 100$$

Dónde:

%H= Porcentaje de humedad

Pi = Peso inicial (g)

Pf = Peso final (g)

ii. Determinación de cenizas

El método que se utilizó fue el gravimétrico por incineración de la muestra (AOAC 940.26, 1990). Y se basa en la destrucción de materia orgánica presente en la muestra por calcinación y determinación gravimétrica de residuo. Se obtuvo el peso constante de los crisoles de porcelana, se pesaron y tararon pesando 1 g de la muestra en la báscula analítica, posteriormente se carbonizó la muestra a fuego directo en la campana de extracción de humos. Después de ser carbonizadas se introdujeron en la mufla (Furnaced, 1500, USA) por 5 horas para ser incineradas a 525°C. Por último, se enfriaron en desecador durante 15 min y se pesó el residuo. La determinación se reportó como porcentaje de ceniza, el cual se obtuvo con la fórmula que a continuación se describe:

(Ec. 4)

$$\%C = \left[\frac{(Pi - Pf)}{Pi} \right] * 100$$

Dónde:

%C = Porcentaje de cenizas

P_i = Peso inicial (g)

P_f = Peso final (g)

iii. Determinación de proteína

Se empleó el método Kjeldahl (AOAC 920.152, 1984), que permite determinar la concentración de nitrógeno presente en la muestra para ser transformado a proteína, este método se puede dividir en 3 etapas: digestión o mineralización, destilación y valoración. Se utilizó un sistema de digestión y destilación automático Kjeldahl (Gerhardt Bonn, Vapodest 50, Alemania), el cual determinó la concentración de nitrógeno presente en la muestra, que al multiplicar por el factor de conversión (harina de 5.7 trigo, 5.83 cebada, 5.76 para las combinaciones y 6.25 para el pan) el porcentaje de proteína. El método se basó en la digestión de 0.5 g (se registró hasta 0.1 mg) de las distintas muestra (harina de trigo, cebada y combinaciones, pan y sus distintas formulaciones), posteriormente fueron preparadas con 15 mL de ácido sulfúrico concentrado, 1 tableta catalizadora Kjelcat™ Cu y 2 mL de agua desionizada, se realizó la digestión en el equipo (Gerhardt, KB8, Alemania), después de 3 horas, cuando las muestras mostraron un color verde esmeralda pasándose al sistema de destilación (Gerhardt Bonn, Vapodest 50, Alemania), durante dicho proceso se formó sulfato de amonio que en presencia de un exceso de hidróxido de sodio al 32 % liberó amoníaco, el cual fue destilado al recibir ácido bórico al 3 % que formó borato de amonio, el cual fue valorado con ácido clorhídrico al 0.1N, determinando la concentración de nitrógeno presente en la muestra. Obteniendo el resultado en porcentaje.

iv. Determinación de grasa

Para ésta determinación se realizó la técnica de Soxhlet (AOAC 945.16, 1990), cuyo principio es determinar grasa todo material soluble en el éter de petróleo, que es el solvente de extracción utilizado para la técnica de Soxhlet, por lo que es expresado como grasa cruda o extracto etéreo, donde se utilizó 1 g de muestra homogenizada y éter de petróleo libre como solvente, se hizo uso de un sistema manual de 3 módulos de extracción, donde se colocaron los cartuchos de celulosa con la muestra previamente pesada y homogenizada, se utilizaron 120 mL de éter en los matraces

bola, finalmente se sellaron los sistemas con una pequeña capa de grasa de silicona para evitar la pérdida del solvente, los matraces y cartuchos de celulosa se llevaron a peso constante antes de ser colocados en el sistema de extracción. El periodo de extracción fue de 4 horas, posteriormente los matraces se llevaron al rotoevaporador (Buchi, R-200, USA), para eliminar el excedente de solvente, por último los matraces se metieron el horno por 30 min a 45°C para obtener el peso final, se determinó el peso de la grasa obtenida por diferencia. Los datos se informaron en porcentaje de materia grasa, utilizando la siguiente fórmula:

(Ec. 5)

$$\%G = \left[\frac{(Pi - Pf)}{Pi} \right] * 100$$

Dónde:

%G = Porcentaje de grasas

Pi = Peso inicial (g)

Pf = Peso final (g)

v. Determinación de carbohidratos totales

Se realizó por diferencia del 100 %, el cálculo fue expresado como % de carbohidratos no digeribles, utilizando la siguiente formula:

(Ec. 6)

$$\%CHO = 100 - (\%H + \%C + \%P + \%G)$$

Dónde:

%CHO= Porcentaje de carbohidratos.

%H = Porcentaje de humedad.

%C = Porcentaje de ceniza.

%P = Porcentaje de proteínas.

%G = Porcentaje de grasas.

B. Determinación de fibra dietética total

Para dicha determinación se usó el kit de Sigma-Aldrich (TDF-100A), mediante métodos enzimáticos y gravimétricos (AOAC 985.29 y 960.52, 1990) bajo las especificaciones del fabricante. Este ensayo determina el contenido total de fibra dietética de los alimentos mediante una combinación de métodos. Las muestras secas, y libres de grasa fueron gelatinizadas con α -amilasa y luego digerido enzimáticamente con la proteasa y amiloglucosidasa para eliminar la proteína y el almidón presente en la muestra. Se añadió etanol 4 veces el volumen final de la etapa enzimática para precipitar la fibra dietética soluble. El residuo se filtró y se lavó con etanol 78 % (40 mL), etanol 95 % (10 mL) y acetona (10 mL). Después del secado, se pesó el residuo. La mitad de las muestras fueron analizadas para proteínas y los otros fueron incinerados cenizas. La fibra dietética total se obtuvo a partir de los residuos, menos el peso de la proteína y cenizas. Fue necesario trabajar con las muestras desgrasadas en el caso de las distintas formulaciones de pan. Se prepararon las alícuotas por cuadruplicado para someterlas a un proceso de digestión enzimática, esta consistió en la degradación de las proteínas (proteasa) y el almidón (α -amilasa, amiloglucosidasa). Posteriormente se realizó una precipitación con etanol al 78 %, seguido de un lavado de etanol al 95 % y por último con acetona al 99.7 %, en crisoles Gooch (C 45-50 μ m). Al residuo se le determinó proteína y ceniza como se describió anteriormente. Los resultados fueron reportados en porcentaje de fibra dietética total, se utilizó la siguiente fórmula.

(Ec. 7)

$$\%FDT = \left[\frac{(R \text{ muestra} - P \text{ muestra} - A \text{ muestras} - B)}{PM} \right] * 100$$

Dónde:

%FDT = Porcentaje de fibra dietética total

R = Promedio del peso residual (mg)

P = Promedio del peso proteico (mg)

A = Promedio del peso de las cenizas (mg)

B = Blanco

PM = Promedio del peso de las muestras (mg)

C. Determinación de β -glucanos

Se realizó mediante el kit K-BGLU de Megazyme para enlace mixto de β -glucanos por el método de McCleary, en combinación con el método 995.16 (AOAC, 1990), se siguieron las especificaciones del fabricante. Se basa de manera general en lo siguiente; las muestras se suspendieron e hidrataron en una solución buffer con un pH 6.5 y luego se incubaron con liquenasa y se filtraron. Una parte alícuota del filtrado se hidrolizó hasta completar obtener la β -glucosidasa. La D-glucosa producida se analizó utilizando un reactivo de glucosa oxidasa / peroxidasa.

Se utilizó 0.5 mg de muestra previamente pulverizada y tamizada, se hidrató la muestra con 100 μ L de etanol (50 % v/v), suspendida con 2 mL de fosfato de sodio, se incubó (Lab-Tech, L513-015S, Corea) a 100 °C por 1 min, mezclando vigorosamente, incubó nuevamente durante 2 min más (misma temperatura), posteriormente se incubó a 50 °C por 5 min, se agregó 100 μ L de liquenasa, se incubó a 50 °C por una hora, agitando durante la incubación, se agregó 2.5 mL de acetato de sodio con un pH de 4, se agitó y dejó a temperatura ambiente durante 5 min, posteriormente se centrifugó (Beckman Coulter, Allegra 25R, México) a 3,000 rpm por 10 min. Se tomó 50 μ L del tubo previamente preparado, y se colocó en 3 tubos, donde al tubo 1 y 2 se les agregó 50 μ L de β -glucosidasa purificada y al tubo 3 se les agregó acetato de sodio, fueron tapados e incubados a 50 °C por 10 min, después se les agregó 1.5 mL de GODPOD, se volvió a incubar 10 min (misma temperatura). Finalmente se leyeron mediante el lector de microplacas (BioTek, 146583, USA) a 510 nm, utilizando un blanco y un estándar de glucosa. Los resultados fueron expresados en porcentaje utilizando la siguiente fórmula:

(Ec. 8)

$$\% \beta \text{ Glucanos BH} = \Delta A * F * \frac{FV}{V} * \frac{1}{1000} * \frac{100}{W} * 0.9 * D$$

(Ec. 9)

$$\% \beta \text{ Glucanos } BS = \% \beta \text{ Glucanos } BH * \left[\frac{100}{(100 - \% H)} \right]$$

Dónde:

% β -glucanos BH= Porcentaje de β -glucanos en base humedad

ΔA = Absorbancia después del tratamiento con la β -glucosidasa, menos la absorbancia de blanco

F = Factor de conversión de los valores de absorbancia de μg de D-glucosa

FV = Volumen final mL

V = Volumen utilizado mL

1/1000 = Conversión de μg a mg

100/W = Factor que expresa el contenido en porcentaje de β -glucanos del peso de la muestra

W = Peso de muestra mg

0.9= Factor de conversión de glucosa libre determinado

D = Dilución antes de la incubación con β -glucosidasa

% β -Glucanos BS = Porcentaje de β -glucanos en base seca

% H = Porcentaje de humedad

5.3. Obtención y caracterización del producto

5.3.1. Proceso de formulación del producto de panificación

Se elaboró el pan tipo bolillo por fermentación, se obtuvieron las formulaciones, un pan control que fue 100 % de harina de trigo, un pan con harina de cebada forrajera en combinación de harina de trigo en porcentajes de 50 %, 75 %, además de dos más 100 % de harina de cebada y uno adicionado con gluten de trigo, 90 % de cebada y 10 % de gluten. A continuación se muestra en la Tabla 4 los ingredientes y las proporciones en que se utilizaron para hacer el pan, lo único que se cambió en los ingredientes por cada formulación fue la cantidad de harina y se agregó el gluten en la última formulación. Los productos fueron caracterizados al final de la elaboración.

Tabla 4. Formulaciones para la elaboración de los diferentes panes, proporción de ingredientes utilizando como base la harina (100 %) a utilizar.

Formulaciones					
INGREDIENTES*	PT	P50	P75	P100	P90
Harina de trigo	100	50	25	0	0
Harina de cebada	0	50	75	100	90
Sal	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Azúcar	8	8	8	8	8
Levadura	4.4	4.4	4.4	4.4	4.4
Mantequilla	24	24	24	24	24
Huevo	40	40	40	40	40
Agua	20	20	20	20	20
Gluten	0	0	0	0	10

*Proporción de ingredientes utilizando en base a la harina (100 %).

PT: Pan 100 % trigo, P50: Pan 50 % trigo/ 50 % cebada, P75: Pan 25 % trigo/ 75 % cebada, P100: Pan 100 % cebada. P90: Pan 0 % trigo/ 90 % cebada/ 10 % gluten.

A. Obtención de gluten

Para poder realizarse la formulación 90 % cebada y 10 % gluten, se obtuvo una extracción de gluten de trigo, primero se determinó de gluten húmedo en la harina de trigo (Vásquez y Matos, 2009), el fundamento se basa en que el gluten puede ser extraído de la harina por lavado suave de una masa (harina + agua), con un exceso de agua o una solución salina. La mayor parte del almidón y otros compuestos solubles fueron removidos por este lavado, hasta que el gluten fue obtenido como una goma con aproximadamente del 80 % del total de la proteína de la harina.

Se amasaron 100 g de harina de trigo con 60 mL de agua desionizada hasta formar una masa firme que no se adhiriera a las paredes del bowl de aluminio, se pesó en una charola de aluminio a peso constante, posteriormente la masa fue cubierta por completa con más agua desionizada se tapó con un trapo húmedo y se dejó reposar (1 hora); pasando el tiempo de reposo, se colocó la masa en un colador, se amasó suavemente bajo el chorro de agua hasta remover todo el almidón soluble, para determinar si el gluten está libre o no del almidón, se agregó 1 o 2 gotas de agua del último lavado de la masas en un vaso de precipitado que contenía agua limpia, si se observa turbidez en el vaso de precipitado indicaba que el almidón estaba presente,

y se debe continuar el lavado hasta que el agua del vaso de precipitado este completamente limpia y transparente, finalmente se eliminó la mayor cantidad de agua del gluten y se pesó en una charola de aluminio a peso constante. Se realizó el cálculo en base humedad mediante la siguiente formula:

(Ec. 10)

$$\%GH = \left(\frac{PR}{PI} \right) * 100$$

Dónde:

%GH= Porcentaje del gluten húmedo

PR = Peso del residuo de la masa inicial (g)

PI = Peso inicial de la muestra (g)

5.3.2. Elaboración del pan tipo bolillo

Se realizó por fermentación por método directo esponja-masa (Cauvain, 2002), utilizando los siguientes ingredientes: harina de trigo, harina de cebada, sal, azúcar, mantequilla, huevo, agua y levadura seca, se realizó el producto siguiendo el esquema general de panificación (Figura 4) que se presenta a continuación.

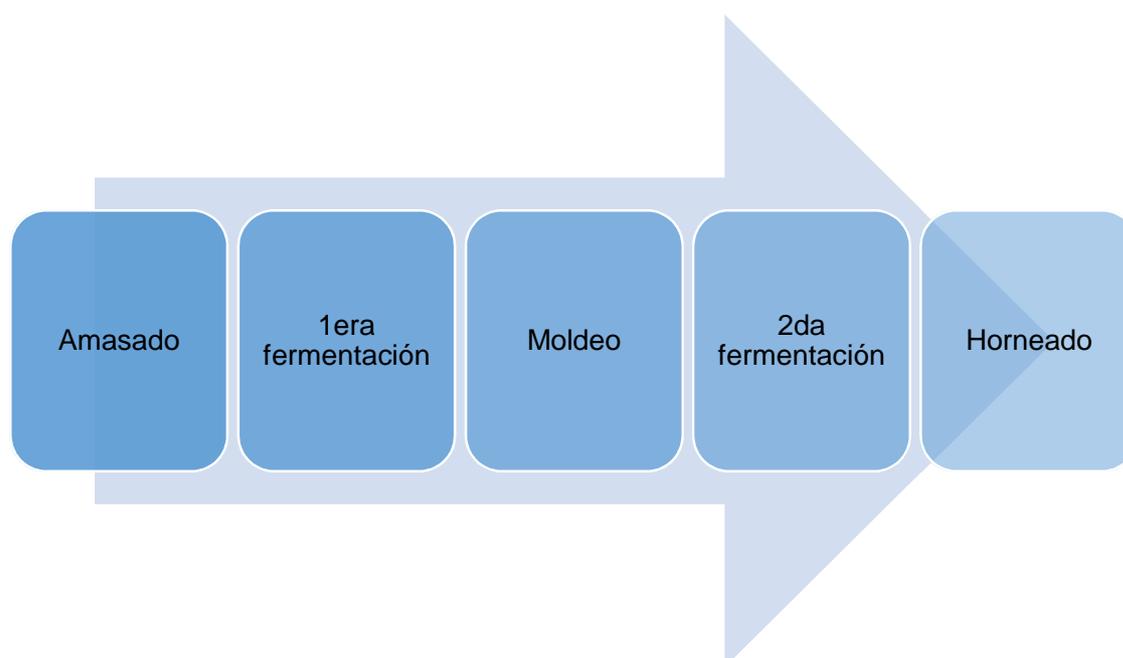


Figura 4. Esquema general de panificación.

Para realizar el pan se pesaron los ingredientes a utilizar, de acuerdo a las proporciones de la Tabla 4, se continuó con el amasado en una batidora semi-industrial (Hamilton Beach, 63232, USA), con el aspa de gancho, donde se cremó la mantequilla, a temperatura ambiente, se le añadió el azúcar y el huevo. Mientras tanto se preparó la levadura de forma independiente, se disolvió en agua a 30°C, con 15 g de azúcar y harina, se disolvió sin dejar grumos y se agregó la levadura, se dejó reposar por 10 min. A la mezcla previa se le fue agregando la harina previamente cernida poco a poco hasta obtener una mezcla completamente homogénea. Se añadió la mezcla de levadura, hasta volver la masa homogénea y esta se despegara por completo del molde, amasando durante 30 min.

Se engrasó un bowl, con un manteca vegetal (0.5 g), se colocó la masa formando una bola, se cubrió la masa con un plástico y dejó reposar por 40 min en un lugar tibio (25-30°C), debe duplicar su tamaño. Después del tiempo transcurrido se sacó la masa del bowl y se aplastó hasta quedar plana, posteriormente se enrolla de manera uniforme, y se cortó en el número de piezas (70-80 g).

Se prosiguió con el moldeado de la pieza característica de un bolillo, se colocaron las piezas en una charola para horno previamente engrasada (una capa delgada de harina. Se colocó un paño húmedo que cubra las piezas y con un aspersor se rosea de agua muy ligeramente todas las piezas y se dejó reposar por 1 hora en un lugar cálido (25-30 °C). Las piezas deben doblar o triplicar su tamaño.

Se precalentó el horno (Coriat, EC-6-HG MASTER, México) de cocina 30 min antes a 210°C, además se colocó un vaso de cristal con agua (especial para el calor del horno), se colocaron las piezas en el horno a 180°C por aproximadamente 20 min, hasta que se observó un color dorado característico del pan.

5.3.3. Composición del producto de panificación

Se realizó el análisis químico proximal para determinar la composición de los panes, además de fibra dietética total, β -glucanos, como se describieron anteriormente en la sección de 5.2. y finalmente se realizó la determinación de cloruros de sodio para el pan, la descripción se menciona a continuación. Finalmente se realizó la toma de

dimensiones del pan y un análisis de la estructura de la miga, se describe en la siguiente sección.

A. Determinación de cloruros de sodio

Se determinó por el método de Mohr (Kirk *et al.*, 2002), el cual consistió en una calcinación de la muestra de pan y posteriormente una valoración química de cloruros con nitrato de plata, utilizando como indicador el cromato de potasio. Se utilizaron 5 g de muestra de pan, los cuales se pesaron en crisoles de porcelana con peso constante previo y se carbonizaron en el mechero a fuego directo en la campana de extracción. Se pesó el residuo del carbonizado y se colocó en un matraz volumétrico y se aforó a 100 mL con agua desionizada, Se prosiguió con una filtración de la solución, posteriormente se tomó una alícuota de 10 mL de la solución y se colocó en un matraz volumétrico de 50 mL con agua destilada y se dejó en reposo una hora, posteriormente se tomó una alícuota de 5 mL, se le colocaron 3-5 gotas de cromato de plata como indicador y se tituló con nitrato de plata hasta virar al tono rojo salmón por 30 segundos, igual se valoraron un blanco y un control. Se utilizaron las siguientes fórmulas para determinar los cloruros en mg y su porcentaje:

(Ec. 11)

$$mg \text{ de NaCl} = \frac{(mL \text{ usados de } AgNO_3) * (5.844 \text{ mg NaCl})}{1 \text{ mL}}$$

Dónde:

mg de NaCl= miligramos de cloruros de sodio.

mL usados de $AgNO_3$ = mililitros usados en la titulación de la muestra de nitrato de plata.

5.844 mg de NaCl= valor reportado en la farmacopea donde 1 mL de nitrato de plata equivale en cloruros de sodio.

(Ec. 12)

$$\% \text{ NaCl} = \frac{(NaCl * 100)}{PM}$$

Dónde:

% NaCl = porcentaje de cloruros de sodio

$NaCl$ = cloruros de sodio obtenidos en la titulación (g)

PM = peso de la muestra (g)

B. Dimensiones del pan y análisis de la estructura de miga

i. Dimensiones del pan

En relación a las dimensiones del pan se tomaron haciendo uso del Vernier (Truper, México), el cual nos permite tomar medidas con mayor exactitud (Toaquiza, 2011), donde se tomaron medidas de largo, ancho y altura del pan después del horneado y enfriado de la pieza, datos reportados en cm.

ii. Análisis de la estructura de miga

La estructura de la miga se evaluó a través de medidas del tamaño de los alveolos de la miga en el pan, por medio de la técnica de análisis de imágenes (Hernández y Franco, 2016) utilizándose dos analizadores de imagen ImagenJ y Dimizer4.

Este método permitió evaluar la estructura de la miga lo cual está estrechamente relacionado con la textura; para realizar el análisis se cortó una rebanada del pan de 5 mm de ancho, posteriormente se escaneó la rebanada a 300 ppp, se utiliza el ImagenJ para procesar la imagen entera, de la cual se tomó una parte de la región central, de cada rebanada del pan; se transformó la imagen en escala de grises obtenido una imagen binaria, mostrando las celdas o alveolos en color negro y en blanco la parte sólida, se continuó con el estilizando la imagen para ser analizada en el programa Dimizer, donde se estableció la unidad de pixeles a milímetros (mm). Finalmente se seleccionaron las áreas de interés del miga y se determinó el área de celdas, área promedio (mm^2), densidad de celdas por cm^2 media de área alveolar en mm y se calculó el porcentaje de la fase dispersa, cabe destacar que mientras más áreas son analizadas se tendrá un mejor el análisis, se realizó el análisis de 10 imágenes por formulación.

El porcentaje de la fase dispersa se define como porcentaje de aire atrapado en la miga por unidad de área.

Fórmula para fase dispersa

(Ec. 13)

$$\% \text{ Fase D} = \frac{(\text{AT de celdas} * 100)}{\text{AT miga}}$$

Dónde:

$\% \text{ Fase D}$ = porcentaje de fase dispersa

AT de celdas = área total de las celdas

AT miga = área total de la miga

5.4. Evaluación de cambios sensoriales y de peso durante el almacenamiento.

5.4.1. Evaluación sensorial

Esta evaluación se percibe a partir de los sentidos (vista, olfato, gusto, oído y tacto) lo cual impacta directamente en la calidad del producto ante el consumidor, además es uno de los factores más importantes para la aceptación de un producto. Las técnicas del análisis sensorial se convierten en herramientas cada vez más empleadas tanto en las industrias de panificación como en el ámbito de la investigación. Se realizó una prueba de nivel de agrado hedónica de cinco puntos (Anexo 1) para identificar el grado de aceptación de las distintas formulaciones del producto (Schutz y Cardello, 2001; Stone y Sidel, 2004; Clark *et al.*, 2009).

Para la evaluación sensorial se calificaron los siguientes atributos, olor, color de corteza, color de miga, sabor, textura y aceptación sensorial (Anexo 1.). Las muestras fueron proporcionadas a los evaluadores iniciando por la de mayor contenido de cebada (P90, P75, P50, P25), hasta llegar al pan control (PT), se les proporcionó una por una de las muestras (5-6 g con una parte de corteza y otra de miga), dando indicaciones de tomar agua al final de cada muestra para enjuagar la boca e identificar bien las características de cada muestra.

Para evaluar los cambios sensoriales del pan, en sus diferentes formulaciones durante el tiempo de almacenamiento, la prueba sensorial fue aplicada a 66 estudiantes del Área Académica de Nutrición (Instituto de Ciencias de la Salud, UAEH, San Agustín Tlaxiaca, Hidalgo), evaluando en 3 tiempos, la primera a las 0 horas de su elaboración, en 24 y 48 horas. Las piezas fueron almacenadas a temperatura ambiente en bolsas de celofán debidamente cerradas con alambre plastificado y domos para pan de plástico transparentes.

5.4.2. Determinación de porcentaje de pérdida de peso

Los productos de panificación, al igual que otros alimentos, tienen una vida de anaquel de 48 horas, después de que salen del horno y llegan hasta el consumidor por lo que se evaluó la pérdida de peso durante un periodo de almacenamiento de 48 horas, para identificar la pérdida de agua del producto durante el almacenamiento. Los resultados fueron expresados en % de pérdida de peso, las piezas de pan se almacenaron a temperatura ambiente en bolsas de celofán y en domos para pan transparentes, se pesaron en las 0 horas, 24 y 48 en balanza analítica, determinado el % de pérdida de peso mediante la ecuación:

(Ec. 14)

$$\% PP = \left[\frac{Pi - Pf}{Pi} \right] * 100$$

Dónde:

% PP = Porcentaje de pérdida de peso

Pi = Peso inicial

Pf = Peso final

5.5. *Diseño estadístico*

Las determinaciones del análisis químico proximal, humedad, cenizas, proteínas, grasas, carbohidratos, además de fibra dietética total y β -glucanos, se realizaron por triplicado con un análisis de comparación de medias por Duncan ($p \leq 0.05$). Estas determinaciones se realizaron en las combinaciones de harinas y pan.

En el pan además se agregaron las siguientes determinaciones: cloruros de sodio, dimensiones por Vernier y pérdida de peso en almacenamiento, igualmente se realizaron por triplicado con el análisis de comparación de medias por Duncan ($p \leq 0.05$). En el análisis estructura de miga se realizó en el pan por triplicado por muestra con 10 imágenes por muestras, obteniéndose los resultados de medias y desviación estándar por Dimizer, analizándose por comparación de medias igualmente por Duncan.

En relación a la evaluación sensorial se realizó a un grupo de 66 estudiantes no entrenadas, una sola aplicación por 0, 24 y 48 horas, analizando los datos por Duncan.

Las determinaciones de se compararon entre cada muestra mediante una análisis de varianza (ANOVA). En el caso de las determinaciones de la evaluación sensorial y pérdida de peso se compraron por muestra y tiempo de almacenamiento en el paquete estadístico de IBM SPSS Statistics versión 22.0, 2014.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se muestran los resultados de cada una de las pruebas.

6.1. *Obtención y caracterización de harina*

6.1.1. Obtención de harina de cebada

En la Tabla 5 se muestran los resultados recabados del rendimiento de los 3 lotes obtenidos.

Tabla 5. Rendimiento de molienda del grano de cebada para la obtención de harina integral.

Lotes	Grano entero (Kg)	Grano sin glumas (%)	Harina (%)	Fracción gruesa (%)*
1	2.501	83.44	90.75	9.24
2	2.503	83.66	91.45	8.54
3	2.500	84.52	90.58	9.41
	2.501±0.00	83.87±0.56	90.92±0.46	9.07±0.46

*Fracción que corresponde al salvado, germen y sémola.

El porcentaje de grano descascarillado fue obtenido con respecto al grano entero.

El porcentaje de harina y fracción gruesa fue obtenido con respecto al grano descascarillado.

La cebada forrajera presentó un alto rendimiento (90.92 %) en harina, según Callejo y colaboradores (2002), se considera a una harina de buen rendimiento aquella de 65-70 %, se considera de alto rendimiento y una harina integral de 90-100 % (Stepniewska *et al.*, 2019).

Márquez (2007) reportó un rendimiento para harina de 11-20% en seis diferentes variedades de cebada, la harina de cebada forrajera de este estudio mostró mayor rendimiento. Esta diferencia puede deberse al tamaño del grano, su comportamiento durante la molienda y cantidad del grano utilizado (Callejo *et al.*, 2002).

Por lo que la variedad de esta investigación pudo haber tenido un tamaño mayor del grano, presentado más endospermo que las variedades estudiadas por Márquez (2007), quien utilizó además un grano perlado para la obtención de harina, es decir,

se eliminó el salvado y el germen; en el caso del presente trabajo se obtuvo una harina a partir de las tres partes anatómicas principales del grano de cebada: el salvado, endospermo y germen; eliminándose únicamente las glumas con el proceso de descascarillado y una porción 9.07% de la fracción gruesa que corresponde al salvado, germen y sémola (Tabla 5); sin embargo en la molienda se registró un rendimiento mayor al 90%, por lo que puede considerarse a la harina obtenida en este estudio como integral (Stepniewska *et al.*, 2019); además el conservar estas estructuras en la harina beneficiará la composición final de la harina, ya que el incorporar el salvado y el germen del grano, puede presentar un alto contenido de fibra, minerales, proteínas, vitaminas y grasas (Stevenson *et al.*, 2012; Morales-Ortega *et al.*, 2013; Prückler *et al.*, 2014); nutrientes que aportan estas estructuras al grano.

6.1.2. Caracterización química de la harina de cebada y trigo

A. Análisis químico proximal

i. Contenido de humedad

En la Tabla 6 se muestra el análisis químico proximal de las distintas formulaciones de harinas. Se observó que la formulación con mayor humedad significativamente fue la H100 (13.25 %), siendo la HT la de menor humedad (9.92 %), mostrando un aumento gradual conforme aumenta el porcentaje de harina de cebada en las muestras, identificando diferencias significativas entre las muestras.

El CODEX (152-1985) establece un porcentaje de humedad por debajo de 15.5%, para asegurar un vida útil adecuada durante el transporte y almacenamiento; mientras que la Norma Mexicana 043 Productos alimenticios no industrializados para consumo humano cebada maltera (2003), establece un rango de humedad de 11.5-13.5 %; todas las muestras y combinaciones entran en los rangos de humedad, incluso la H100 a pesar de presentar el valor de humedad mayor (Tabla 6).

Tabla 6. Análisis químico proximal (%) de las distintas formulaciones de harinas.

Muestra	Humedad	Ceniza	Proteínas	Grasas	HCO
HT	9.92 ± 0.07 ^e	0.55 ± 0.02 ^e	10.07 ± 0.05 ^c	0.99 ± 0.00 ^b	78.47 ± 0.00 ^a
H25	10.71 ± 0.02 ^d	0.87 ± 0.10 ^d	10.22 ± 0.05 ^b	0.99 ± 0.00 ^b	77.31 ± 0.00 ^b
H50	11.53 ± 0.24 ^c	0.92 ± 0.00 ^c	10.27 ± 0.05 ^b	0.99 ± 0.00 ^b	76.27 ± 0.00 ^c
H75	12.22 ± 0.22 ^b	1.27 ± 0.00 ^b	10.32 ± 0.05 ^b	1.99 ± 0.00 ^a	74.17 ± 0.00 ^d
H100	13.25 ± 0.16 ^a	1.52 ± 0.01 ^a	10.66 ± 0.05 ^a	1.98 ± 0.51 ^a	71.57 ± 0.00 ^e

^{a-e} Letras superíndices diferentes indican la diferencia estadística significativa ($P < 0.05$) entre las muestras, de acuerdo a la prueba de comparación de medias de Duncan.

HCO: Hidratos de Carbono

HT: Harina 100 % trigo, H25: Harina 75 % trigo/ 25 % cebada, H50: Harina 50 % trigo/ 50 % cebada H75: Harina 25 % trigo/ 75 % cebada, H100: Harina 100 % cebada.

De acuerdo a otros estudios realizados en distintas variedades de cebada reportaron 10-14 % de humedad en la cebada (Harol *et al.*, 1987; Andersson *et al.*, 2001; López *et al.*, 2007; Hussein *et al.*, 2013), los datos obtenidos de humedad en esta investigación se encuentran entre los valores promedio reportados previamente.

Para cereales en general se considera como humedad crítica tener 14 % para el desarrollo de microorganismos (Belitz y Grosch, 2000; Serna, 2013). La cebada forrajera del presente trabajo mostró un contenido de humedad menor al crítico lo cual es una ventaja ya que implica menos gastos en manejo del grano, además de ser menos propenso a deteriorarse, asegurando una vida útil durante el transporte y almacenamiento.

ii. Contenido de cenizas

Los resultados de ceniza se puede observar una diferencia significativa entre cada una de las harinas, siendo mayor el contenido de cenizas en la H100 (1.52 %), teniendo el menor contenido la HT (0.55 %).

La Norma Mexicana 007 Alimento para humanos, harina de trigo (1982) establece para harina de trigo utilizada para panificación un máximo de cenizas de 0.55 %, rango en el que entra la HT.

En cuanto a la harina de cebada no existe una norma que establezca el % de cenizas, pero en un estudio de 6 variedades de cebada obtuvieron un contenido de ceniza de 0.96-1.17%, se realizó el descascarillado y pulido del grano para obtener una cebada perlada y posteriormente la harina (Márquez 2007), en comparación con la harina de cebada forrajera obtenida en esta investigación este tuvo mayor contenido de cenizas, lo cual puede deberse principalmente a que se mantuvieron más elementos de la periferia del grano durante la molienda, ya que no se pulió el grano, manteniendo el salvado y la capa de aleurona, estructuras que aportan a la harina principalmente fibra, cenizas, vitaminas y proteínas (Baladrán-Quintana *et al.*, 2015).

Otro factor de importancia es la composición del suelo en el cual fue cultivado el cereal, ya que los fertilizantes utilizados y otros factores ambientales pueden influir en el contenido de material inorgánico de los cereales (Dendy y Dobraszczuk, 2004; Serna, 2013).

Algunos autores mencionan que el contenido de cenizas tiene una estrecha relación con el rendimiento, ya que a medida que aumenta el rendimiento de la harina esta contendrá más estructuras del grano (Newman y Newman, 2008; Koletta *et al.*, 2014; Baladrán-Quintana *et al.*, 2015) lo que se coincide con lo obtenido en la presente trabajo, ya que se tuvo un alto rendimiento, así como un mayor contenido de cenizas que otras variedades estudiadas.

En relación a las harinas combinadas, se dio un aumento gradual en el porcentaje de ceniza, esto se atribuye al mayor contenido de harina de cebada, aumentando el contenido de ceniza de manera proporcional.

iii. Contenido de proteína

En relación a los datos obtenidos de proteínas (Tabla 6), se aprecia que la HT la del menor contenido significativamente de proteínas (10.07 %), observando un aumento gradual de las proteínas en las combinaciones de harinas, H25 (10.22 %), H50 (10.27 %), H75 (10.32 %), lo cual es debido al aporte de proteína por parte de la H100 (10.66 %).

La Norma Mexicana 007 Alimento para humanos, harina de trigo (1982) para la harina de trigo en panificación establece un porcentaje mínimo de 9.5 %, por lo que la harina de trigo utilizada está dentro de lo establecido. En relación a la cebada el porcentaje de proteínas en harina es de 5-9 % (Márquez, 2007; Newman y Newman 2008); se puede ver que la H100 tuvo un valor mayor (10.66 %); se han encontrado valores similares pero en grano entero con 10-14.5% (Newman y Newman 2008; Zamora *et al.*, 2017). En cuanto a harinas, el CODEX (152-1985) establece 9-14 % en harinas ideales para panificación, por lo que todas las muestras estudiadas entran en dicho rango, por lo que en la elaboración del pan puede tener buenos resultados.

Un mayor contenido de proteína en la harina de cebada puede deberse a la cantidad de componentes del grano que se mantuvieron durante la molienda, el salvado y la capa de aleurona; donde la capa de aleurona la que aporta proteínas a la harina de este estudio. Para obtención de harinas se eliminan estructuras del grano como el salvado, capa de aleurona y germen utilizando únicamente el endospermo almidonoso, ya que permite obtener harinas blancas y muy finas harinas que se utilizan para panificación (Donkelaar *et al.*, 2015; Felizardo y Freire, 2018). Por otro lado la cantidad de proteína difiere notablemente en los distintos cereales e inclusive dentro del mismo cereal de unas cosechas a otras, esto se debe a la fuerte interacción entre el genotipo y las condiciones ambientales que prevalecen durante el desarrollo y la maduración del grano (UNAM, 2013, Donkelaar *et al.*, 2015).

iv. Contenido de grasas

En los resultados de grasa se observó mayores valores significativamente en las muestras H100 (1.98 %) y H75 (1.99 %) con respecto a la HT, H25 y H50 (0.99 %) (Tabla 6). Los datos del estudio (0.99-1.99 %) son similares a los reportados por Belitz y Grosch (2000), Márquez (2007), López y colaboradores (2007), Zamora y colaboradores 2017, que va de 1-2 % para cereales.

En general, se sabe que los cereales tienen un bajo porcentaje de lípidos, en el caso de la cebada este se encuentra entre 1 y 3 %, los cuales están presentes principalmente en el germen y la capa de la aleurona del grano (Andersson *et al.*,

1999; Callejo *et al.*, 2002; López *et al.*, 2007). Por lo que el aumentó en el porcentaje de grasa en las formulaciones, puede deberse a la harina de cebada, que conservó el germen y la capa de la aleurona después de la molienda, manteniendo el porcentaje de grasa del cereal en la harina.

v. Contenido de carbohidratos totales

Con respecto a los datos obtenidos de hidratos de carbono (HCO) (Tabla 6), se encontraron diferencias significativas entre todas las harinas. Siendo HT la que mostró mayor contenido de HCO con 78.47 % mientras que la muestra H100 fue la que alcanzó los valores de HCO más bajos (71.57 %).

Los HCO son el mayor constituyente de los granos de cereales. A su vez la harina de trigo se ha reportado valores de 68-86 % (UNAM, 2013), rango donde se encuentra la harina de trigo utilizada en el presente trabajo (78.47 %). En la cebada puede existir una variación de 70-83 % (Callejo *et al.*, 2002), donde la cebada estudiada se encontró dentro de dicho parámetro (71.57 %).

En cervecería es deseable mayor contenido de HCO y menor cantidad de proteína (Suárez, 2013). López y colaboradores (2007) reportan una relación inversa, entre los porcentajes de proteína y HCO; es decir, a más alto contenido de HCO menor contenido de proteína. Lo cual puede explicar porque en la harina de trigo donde se obtuvo un valor menor de proteína (10.07 %) se aprecia un valor más alto de HCO (78.47 %) (Tabla 6), además de que presentó valores más bajos en humedad, cenizas y grasas, lo cual impacta directamente en el resultado de HCO; en comparación con los valores obtenidos para la harina 100% de cebada (Tabla 6), observándose un valor mayor de proteínas (10.66 %) y menor en HCO (71.57 %) teniendo valores más altos en cenizas y grasas, lo cual se puede atribuir a que la harina tenía parte del salvado y el germen, partes anatómicas del grano que aportan cenizas, grasas y fibra (Baladrán-Quintana *et al.*, 2015; Donkelaar *et al.*, 2015; Felizardo y Freire, 2018).

B. Contenido de fibra dietética total

La fibra dietética son carbohidratos complejos indigeribles debido a la falta de enzimas en el cuerpo humano. Se determinó el contenido de fibra dietética total en todas las muestras de harina (Tabla 7), donde la muestra HT tuvo el valor más bajo significativamente (2.10 %) en comparación las demás formulaciones, observando un incremento significativo proporcional a la cantidad de harina de cebada utilizada, H25 (4.85 %), H50 (7.19 %), H75 (9.54 %); siendo la de mayor porcentaje la H100 (12.29 %).

La harina de trigo (HT) mostró valores de 2.10% lo cual se encuentra entre los rangos conocidos para este tipo de cereal (1-2 %) (UNAM, 2013) y valores por encima de la Norma Mexicana 007 Alimento para humanos, harina de trigo (1982) que maneja rangos de 0.2-0.6 %.

Tabla 7. Contenido de fibra dietética total y β -glucanos (%) de las distintas formulaciones de harinas.

Muestra	Fibra dietética total	β -glucanos
HT	2.10 \pm 0.09 ^e	0.35 \pm 0.01 ^e
H25	4.85 \pm 0.11 ^d	1.79 \pm 0.05 ^d
H50	7.19 \pm 0.16 ^c	3.01 \pm 0.01 ^c
H75	9.54 \pm 0.10 ^b	4.38 \pm 0.03 ^b
H100	12.29 \pm 0.07 ^a	5.71 \pm 0.10 ^a

^{a-e} Letras superíndices diferentes indican la diferencia estadística significativa ($P < 0.05$) entre las muestras, de acuerdo a la prueba de comparación de medias de Duncan.

HT: Harina 100 % trigo, H25: Harina 75 % trigo/ 25 % cebada, H50: Harina 50 % trigo/ 50 % cebada H75: Harina 25 % trigo/ 75 % cebada, H100: Harina 100 % cebada.

En relación a la cebada se reconoce como uno de los cereales con mayor contenido de fibra en comparación con el trigo, su contenido depende de si se utiliza el grano entero o sin salvado, de la variedad del grano; así como las condiciones de siembra del mismo, llegando a presentar hasta un 20 % de fibra dietética total (Åman *et al.*,

1985; Oscarsson *et al.*, 1996; Lahouar *et al.*, 2016). En estudios con distintas variedades de cebada, han reportado contenido de 4.8-8.4 % de fibra dietética total (López *et al.*, 2007; Márquez, 2007); la variedad de esta investigación tuvo un contenido mayor (H100 12.29 %) que otras especies de cebada.

Cabe destacar que para la obtención de la harina utilizada en este trabajo, se retiraron únicamente las glumas, dejando el salvado intacto durante la molienda, estructura que aporta principalmente fibra permitiendo un nivel más alto de este componente en la harina.

C. Contenido de β -glucanos

En relación a los β -glucanos (Tabla 7), el mayor contenido ($p < 0.05$) lo presentó la H100 (5.71 %), con respecto a las demás harinas, con un aumento gradual y proporcional de β -glucanos en las combinaciones de las harinas de trigo y cebada, similar a lo obtenido en fibra dietética total.

El contenido de β -glucanos en cebada va de 3-7 % en peso seco de grano entero, siendo un cereal de alto contenido, seguido por la avena (Åman y Graham, 1987; Oscarsson *et al.*, 1996; Newman y Newman, 2008). La cebada forrajera en este estudio se encontró, con un resultado muy similar (5.71 %). También se reconoce que el contenido de β -glucanos puede variar considerablemente, entre variedades de cebada (Oscarsson *et al.*, 1996; Pizarro *et al.*, 2014). Los β -glucanos, en la cebada, están distribuidos en toda la aleurona y endospermo, es un componente estructural mayoritario de la pared celular del grano, cuya síntesis es dependiente de las condiciones geoclimáticas, lo cual inciden directamente en el contenido de β -glucano del cereal (Grando y Gómez, 2005; Wood, 2007; Newman y Newman, 2008; Bacic *et al.*, 2009).

La FDA (2018) a señalando como alimento funcional al que aporte un mínimo de 3 g/día de β -glucanos; por lo que se buscó alcanzar esta recomendación con las formulaciones de pan, debido a esto para la elaboración del pan se decidió tomar las formulaciones que alcanzaban un contenido ≥ 3 g de β -glucanos, por lo que la

muestra H25 fue eliminada para las formulaciones del pan por su bajo contenido de β -glucanos (Tabla 7).

6.2. Obtención y caracterización del producto

Se realizó un pan con harina de trigo y harina de cebada como ingrediente base, a continuación se muestran los resultados de la caracterización del producto.

6.2.1. Elaboración del pan

Para la elaboración de los distintos panes se consideraron las formulaciones anteriores (Tabla 3), además de una formulación 90 % de cebada y 10 % de gluten (P90); se utilizó la misma base de ingredientes para todas la formulación y únicamente variaron los porcentajes de harinas (Tabla 4), se calculó un costo aproximado de \$7.00 por pieza, de acuerdo los ingredientes utilizados para la elaboración de las formulaciones, en el pan con mayor porcentaje de cebada.

En la Tabla 8 se exponen los resultados obtenidos del porcentaje de pérdida de peso durante el horneado, donde se ve un % de pérdida de peso significativamente menor en la muestra PT (13.30 %), en relación a las demás formulaciones y la mayor pérdida en P100 (25.84 %), en comparación con las P50 (22.37 %) y PT (13.30 %).

Tabla 8. Pérdida de peso durante el horneado.

Muestra	% Pérdida de peso (horneado)
PT	13.30 \pm 1.88 ^c
P50	22.37 \pm 2.91 ^b
P75	24.42 \pm 2.46 ^{ab}
P100	25.84 \pm 1.75 ^a
P90	24.38 \pm 1.11 ^{ab}

^{a-e} Letras superíndices diferentes indican la diferencia estadística significativa ($P < 0.05$) entre las muestras, de acuerdo a la prueba de comparación de medias de Duncan.

Se consideró como 100 % el total de la masa introducida al horno, antes de horneado.

PT: Pan 100 % trigo, P50: Pan 50 % trigo/ 50 % cebada, P75: Pan 25 % trigo/ 75 % cebada, P100: Pan 100 % cebada. P90: Pan 0 % trigo/ 90 % cebada/ 10 % gluten.

El porcentaje de pérdida de peso durante el horneado, está directamente relacionado con la pérdida de humedad que experimenta la masa cruda durante todo el proceso de fabricación, espacialmente el horneado (Calaveras, 2004). La pérdida promedio para pan de trigo se sitúa entre 10-15 % (Macoto, 2014), por lo que el valor obtenido referente al PT se encontró dentro del rango (13.30 %). En cuanto a los demás, la pérdida de peso fue mayor, y pudo deberse a una mayor evaporación, lo cual se debe a que se utilizaron 2 tipos de harinas, siendo la harina de trigo la que tiene mayor capacidad de absorción y retención de agua que la cebada (Macoto, 2014).

La retención de agua de las harinas se debe principalmente a distintos factores, la calidad y cantidad de gluten, porcentaje de almidón dañado y presencia de fibra; teniendo mayor impacto la calidad y cantidad del gluten (Cerde-Mejía *et al.*, 2017).

La harina 100 % de cebada (H100) tuvo los valores más altos en proteínas (Tabla 6), sin embargo la calidad del gluten no es la misma que del gluten de trigo, debido a que el gluten de trigo está compuesto por gliadinas y gluteninas proteínas que contribuyen a la naturaleza viscoelástica del gluten (Quaglia, 1991; Callejo *et al.*, 2002; Hamada *et al.*, 2012; Nwanekezi, 2013), en la cebada estas proteínas son sustituidas por los las hordeínas, proteína similar pero que no presenta las características funcionales del gluten del trigo (Hernández-Espinosa *et al.*, 2015; Salgado-Albarrán *et al.*, 2015); afectando la calidad de los panes con mayor cantidad de harina de cebada (P75, P100 y P90), presentando una mayor pérdida de humedad (% pérdida de peso), volviendo el producto mucho más seco y menos desarrollado (Villanueva, 2014).

En relación del almidón, tiene la capacidad de hidratarse y gelatinizar, permitiendo la retención de humedad durante el horneado (Matignon y Tecante, 2017), sin embargo puede dañarse durante la molienda del grano; el daño en la integridad del almidón (almidón dañado) del cereal provoca un aumento de capacidad de absorción y una menor retención de agua volviéndose más poroso, el almidón dañado puede presentar entre un 3-9 % del peso total de la harina, un porcentaje mayor genera una mayor pérdida de humedad (Ali *et al.*, 2014; Barrera, 2014); en el caso de la harina

de cebada, se pudo haber generado un porcentaje mayor del almidón dañado durante la molienda, provocando una mayor pérdida de humedad en las formulaciones con mayor porcentaje de harina de cebada.

Por otro lado, la presencia de fibra soluble ha demostrado que interactúa con las proteínas presentes en la harina, permitiendo una mayor absorción de agua, dando mayor elasticidad con un porcentaje de 1.2 %, si se aumenta el contenido de fibra soluble, esta entra en competencia con las proteínas de la harina disminuyendo las características propias de esta y generando una mayor pérdida de humedad (De La Llave, 2004; Pejcz *et al.*, 2017). Se pudo observar, que la harina de cebada utilizada en el estudio mostró un porcentaje de fibra mayor, factor que pudo contribuir a una mayor pérdida de humedad en las muestras P75, P100 y P90.

6.2.2. Composición del producto de panificación

En relación a la elaboración del pan, su composición básica dependerá de la harina de origen, el pan se realiza principalmente con harina de trigo, sin embargo introducir la harina de cebada cambió su composición, apariencia, textura y sabor, además que la adición de ingredientes como el huevo y la mantequilla, también tuvieron un impacto sobre la composición del producto final.

Por otro lado el uso de la harina comercial refinada y la harina de cebada integral mostró una diferencia en la composición del producto, como se observó en la composición de las harinas en la sección anterior.

A. Análisis químico proximal

i. Contenido de humedad

En la Tabla 9 se aprecian los resultados del análisis químico proximal de las distintas formulaciones de pan, en los resultados de humedad se apreció que la PT y P50 tuvieron el mayor porcentaje de humedad significativamente en comparación con las otras muestras; una mayor pérdida de humedad pueden afectar la textura del producto, así como la sensación de frescura (Mesas y Alegre, 2002; Stauffer, 2002).

De acuerdo a la Norma Mexicana-F-406 Alimento para humanos, pan blanco, bolillo y telera (1982), el contenido de humedad del pan blanco bolillo debe ser de 16-18 %, por lo que ninguno de los productos elaborados entraron dentro de este parámetro, en relación a la Norma Mexicana-F-442 (1983) para productos de bollería, el porcentaje de humedad es de 15-35 %, porcentaje en el que entraron todas las muestras. Por otra parte existen otras variedades de panes con humedades similares a las obtenidas, el pan tipo hamburguesa o hot-dog (24 %), pan de soya con harina de trigo (27 %), (Bejarano *et al.*, 2002).

Tabla 9. Análisis químico proximal (%) de las distintas formulaciones de pan.

Muestra	Humedad	Ceniza	Proteínas	Grasa	HCO
PT	30.40 ± 0.18 ^a	1.82 ± 0.02 ^d	12.07 ± 0.07 ^d	15.74 ± 0.17 ^a	39.97 ± 0.00 ^c
P50	30.08 ± 0.20 ^a	2.10 ± 0.00 ^c	12.41 ± 0.08 ^c	15.94 ± 0.07 ^a	39.47 ± 0.00 ^d
P75	26.55 ± 0.38 ^b	2.27 ± 0.00 ^b	12.50 ± 0.04 ^c	15.91 ± 0.05 ^a	42.77 ± 0.00 ^b
P100	24.40 ± 0.26 ^c	2.38 ± 0.01 ^a	13.53 ± 0.10 ^b	15.93 ± 0.05 ^a	43.76 ± 0.00 ^a
P90	26.37 ± 0.22 ^b	2.34 ± 0.00 ^a	16.86 ± 0.15 ^a	15.86 ± 0.10 ^a	38.57 ± 0.00 ^e

^{a-e} Letras superíndices diferentes indican la diferencia estadística significativa ($P < 0.05$) entre las muestras, de acuerdo a la prueba de comparación de medias de Duncan.

HCO: Hidratos de Carbono

PT: Pan 100 % trigo, P50: Pan 50 % trigo/ 50 % cebada, P75: Pan 25 % trigo/ 75 % cebada, P100: Pan 100 % cebada. P90: Pan 0 % trigo/ 90 % cebada/ 10 % gluten.

Un porcentaje mayor o menor de humedad se debe principalmente al almidón presente en las harinas y su capacidad de hidratación (Matignon y Tecante 2017; el trigo contiene aproximadamente 75 % de amilopectina y 25 % de amilosa, mientras que la cebada 95-100 % de amilopectina, lo cual modifica la capacidad de hidratación y disminuye la retención de humedad del almidón (UNAM, 2013); la diferencia en estos porcentajes podría ser una de las razones para que las muestras con mayor contenido de cebada (P75, P100 y P90) presentaran una menor humedad en comparación con las formulaciones con mayor cantidad de trigo (PT y P50).

Otro factor de importancia en la retención de humedad es el contenido de proteínas, al ser mezcladas con agua se hidratan permitiendo la formación del gluten propiedad característica de las proteínas del trigo (Blandino *et al.*, 2015; Bravo y Moreno, 2015). Una harina con poca cantidad de proteínas o baja calidad retiene y absorbe menos agua (Matsushita *et al.*, 2019), en relación a las formulaciones, la PT y P50 mostraron un mayor porcentaje de humedad, muestras con mayor porcentaje de harina de trigo, harina con un buen contenido de gluten, en comparación con los panes con mayor contenido de cebada (P75, P100 y P90).

Igualmente pero con menor impacto en la retención de humedad es el porcentaje de fibra, ya que interfiere con la estructura del gluten, compitiendo por la absorción de agua y provocando una mayor pérdida de humedad (Blandino *et al.*, 2015), lo que pudo impactar en las muestras con mayor contenido de cebada, ya que presentaron menor % de humedad.

Otro elemento que facilitó la retención de humedad en las muestras con mayor contenido de trigo, son los mejoradores presentes en la harina de trigo, como el ácido L-ascórbico, se utiliza principalmente para reforzar las cadenas de gluten (Bravo y Moreno, 2015; Matsushita *et al.*, 2019). Otras funciones son que evita la pérdida de CO₂, facilita la absorción de agua y retención (Fadda *et al.*, 2014), motivo por el cual podría explicarse porque el PT tuvo mejor retención de humedad, en comparación con las formulaciones con mayor contenido de harina de cebada P100, P90, la harina de cebada no fue adicionada con ningún tipo de mejorador.

Además de los factores presentes en la harina (almidón, proteínas, fibra y mejoradores), existen otros ingredientes que son importantes para la retención de humedad como el huevo y la mantequilla, ingredientes secundarios en la fabricación del pan (Cauvain, 2002; Hamelman, 2013); por lo que su adicción en todas las formulaciones pudo haber ayudado a mejorar la retención de humedad, motivo por el cual todas las formulaciones mostraron un % de humedad mayor en comparación con el porcentaje establecido para pan tipo bolillo de acuerdo a la Norma Mexicana (406-1982).

ii. Contenido de cenizas

En relación a los resultados del contenido de cenizas se observó una diferencia significativa mayor en las muestras P100 y P90 (2.38 % y 2.34 %) en comparación con las otras muestras. Cabe destacar que en base a la composición de las harinas utilizadas, la H100 presentó el mayor contenido de cenizas (Tabla 6), lo que se refleja en el mayor contenido en P100 y P90, disminuyendo de manera proporcional a sus concentraciones en las distintas formulaciones (P75 y P50).

La Norma Mexicana F-442 alimentos, pan (1983) y la Norma Mexicana F-406 pan blanco bolillo y telera (1982) no establecen porcentaje para el contenido de cenizas, sin embargo, Zuleta y colaboradores (2012), para pan blanco estima un porcentaje de ceniza de 0.4 %- 1.7 %, donde la PT mostró valores similares, existen estudios con distintas variedades de panes, sin embargo, el contenido de cenizas varía de 2–5 % dependiendo de los ingredientes básicos para su elaboración (Calderón, 2005; Torres, 2007; Zuleta *et al.*, 2012), valores similares a los obtenidos en esta investigación, en todas las formulaciones con cebada.

Los datos de ceniza son mayores en las muestras con cebada, lo cual se debe principalmente a que la harina de cebada tuvo valores más altos de ceniza (Tabla 6).

El cuerpo humano utiliza los minerales para realizar distintas funciones y necesita diferentes cantidades (Badui, 2006), por lo que los requerimientos van de acuerdo a la edad, sexo y el estado de salud (embarazo, pacientes nefropatías, cardíacos, entre otros) (Casanueva, *et al.*, 2008). El P100 aportaría los siguientes minerales reportados en la cebada, potasio, magnesio, calcio, hierro, fósforo, cobre, zinc, manganeso y selenio (Holopainen-Mantila, 2015; Lahouar *et al.*, 2016). Sin embargo debe profundizarse a identificar en esta variedad los minerales presentes y sus concentraciones.

iii. Contenido de proteínas

En cuanto al contenido de proteína (Tabla 9), el P90 presentó el valor más ($p < 0.05$) con respecto a los demás (16.86 %), siendo el valor más bajo la muestra PT (12.07 %). Las muestras P50 y P75 tuvieron valores similares.

Las Normas Mexicanas establecen un mínimo de 9 % en proteína para pan blanco (NMX-F-406, 1982) y la Norma para productos de bollería un mínimo de 6 % (NMX-F-442, 1983); el pan elaborado en este estudio mostró valores mayores; lo cual puede deberse a la materia prima utilizada, existen datos similares en proteína en pan con leche, pan de soya con trigo, pan integral y pan de trigo con avena (9-13 %) (Bejarano *et al.*, 2002; Calderón, 2005; Zuleta *et al.*, 2012).

En relación a la materia prima utilizada, la harina de cebada presentó un mayor contenido de proteínas en relación con la harina de trigo (Tabla 6), por lo que, a mayor porción de harina de cebada, en la formulación mayor contenido de proteína, además otro ingrediente que aporta proteína en todas la formulaciones es el huevo, materia prima conocida por tener un aporte de proteína en la nutrición humana (Gálvez *et al.*, 2006; Instituto de estudios del huevo, 2009).

Por otro lado, el pan P90 tiene el valor más alto de proteína (16.86 %) debido a la incorporación del 10 % de gluten de trigo, con el fin de mejorar las características visco-elásticas de la formulación, propiedad que poseen las proteínas del trigo y que no poseen las proteínas de otros cereales como la cebada (Cauvain, 2002; Hamada *et al.*, 2012).

La Organización Mundial de la Salud (OMS, 2018) recomienda una ingesta de proteínas de 10-15% del aporte calórico total de un individuo adulto sano, por lo que el P90 aportaría un aproximadamente un 20% de la recomendación diaria. En comparación con un pan integral comercial que aporta entre 9-10%, mientras el pan elaborado en este estudio aporta más proteínas de 12.41-16.86% (formulaciones P50, P75, P100, P90), aportando aminoácidos provenientes de la cebada como lisina, leucina, fenilalanina, valina y triptófano (Holopainen-Mantila, 2015), donde la lisina es un aminoácido limitado en el trigo y el triptófano en el maíz (Serna, 2013: UNAM 2013). Aminoácidos esenciales que participan en funciones metabólicas y bioquímicas; la lisina, regula la absorción del calcio, ayuda a la formación de colágeno, anticuerpos, hormonas y enzimas (Moughan y Rutherford, 2008). El triptófano, modula el apetito, la saciedad y es precursor de la serotonina (Lakhan y Vieira, 2008). Sin embargo, debe investigarse la cantidad presente de estos

aminoácidos en la cebada forrajera así como su digestibilidad para asegurar el aporte de estos aminoácidos por parte de la cebada forrajera, además que el adicionar el huevo también enriquece el pan y mejor su valor nutricional.

iv. Contenido de grasas

Los datos del porcentaje de grasa de las distintas formulaciones de pan se pueden observar en la Tabla 9, donde no existió diferencia significativa entre las muestras con un rango de 15.74 %-15.94 %. La Norma mexicana para pan blanco, tipo bolillo, establece un rango para grasas de 0.8-4 % (NMX-F-159-S-1983), por lo que ninguna de las formulaciones entraron en los parámetros, sin embargo, la norma establece como ingredientes básicos la harina de trigo, levadura, sal, azúcar y agua, se debe recordar que para la elaboración final del producto se agregó mantequilla y huevo, siendo la mantequilla el ingrediente con mayor contribución al porcentaje de grasa del producto final, aportando principalmente grasas saturadas y vitamina A (Fundación Española de Nutrición, 2013), el huevo aporta ácidos grasos esenciales linoleico y alfa-linolénico, igualmente predomina el ácido graso oleico, además de triglicéridos, lecitina y colesterol (Sayar, 2006).

La adición de estos dos ingredientes el huevo y mantequilla fue con el fin de ayudar a una mejor distribución de la materia grasa, retención de agua, por su acción emulsificante (Cauvain, 2002), funcionando como lubricante, ya que sirve para acondicionar el gluten permitiendo un mejor desarrollo, evitando la pérdida de humedad, por lo que el producto se conserva fresco durante un tiempo más prolongado (Hamelman, 2013).

La recomendación de grasas va de 15-35 % del requerimiento calórico, limitando el consumo de colesterol, grasas saturadas (OMS, 2018), en este producto se tuvo un porcentaje de 15-16 %, los ácidos grasos son insaturados principalmente oleico, linoleico, ácido palmítico que es principal ácido graso saturado (Serna, 2013).

Además, el agregar cebada no aumento el porcentaje de grasas en el pan, este porcentaje estuvo influenciado principalmente por la adicción de huevo y mantequilla, por lo que adicionar esta harina cambio la composición de lípidos.

v. Contenido de carbohidratos totales

En relación a los datos de HCO, se observó que todas las muestras fueron diferentes significativamente, la muestra P100 fue la que obtuvo el mayor porcentaje de HCO (43.76 %) y la muestra P90 fue la de menor valor (38.57 %) (Tabla 9). Los valores obtenidos son similares a lo reportado por otro autor 49 % (Moreiras *et al.*, 2013).

Los datos de HCO varían de entre 40-50 %, debido a la diversidad de ingredientes utilizados en la elaboración y el tipo de pan obtenido aportando principalmente almidón (Cauvain, 2002), que proviene principalmente de la harina, en el cereal además del almidón, también podemos encontrar azúcares, celulosas, hemicelulosas y pentosas (Newman y Newman, 2008; Nwanekezi, 2013; Serna, 2013). Por lo que el uso de dos harinas distintas como lo fue la de trigo y cebada generan la variabilidad en el contenido de HCO.

El almidón principal HCO en panificación tiene la capacidad de absorción de agua, que permite la acción de las levaduras, además presenta la capacidad de gelatinizar, cuando se hidrata y calienta progresivamente, lo cual junto con el gluten generan la estructura característica del pan (Matignon y Tecante, 2017).

El P100 a pesar de presentar un %HCO mayor que el PT, el índice glucémico puede ser bajo, debido a que presenta HCO complejos, como la fibra, por lo que puede ser un alimento de importancia nutricional, tanto en personas sanas como en personas con alguna patología (como por ejemplo la diabetes, cáncer u obesidad) (American Diabetes Association, 2015).

B. Contenido de fibra dietética total

En la Tabla 10 se observan los valores de las determinaciones de fibra dietética total, β -glucanos y cloruros de sodio (%) de las distintas formulaciones de pan, con respecto a la fibra dietética total, se apreció diferencias ($p < 0.05$) entre las muestras, siendo la muestra P100 la que presentó mayor contenido de fibra (13.97 %), mostrando una disminución proporcional del % de fibra en función al contenido de

harina de cebada en las diferentes formulaciones, siendo la PT el que obtuvo un menor contenido (2.35 %), datos similares a los alcanzados en las harinas (Tabla 7).

Tabla 10. Contenido de fibra dietética total, β -glucanos y cloruros de sodio (%) de las distintas formulaciones de pan.

Muestra	Fibra dietética total	β -glucanos	Cloruros de sodio
PT	2.35 \pm 0.13 ^e	0.27 \pm 0.00 ^e	0.06 \pm 0.00 ^a
P50	10.08 \pm 0.21 ^d	2.46 \pm 0.01 ^d	0.06 \pm 0.00 ^a
P75	11.66 \pm 0.06 ^c	3.47 \pm 0.07 ^c	0.06 \pm 0.00 ^a
P100	13.97 \pm 0.17 ^a	4.68 \pm 0.05 ^a	0.06 \pm 0.00 ^a
P90	13.30 \pm 0.07 ^b	4.60 \pm 0.04 ^b	0.06 \pm 0.00 ^a

^{a-d} Letras superíndices diferentes indican la diferencia estadística significativa ($P < 0.05$) entre las muestras, de acuerdo a la prueba de comparación de medias de Duncan.

PT: Pan 100 % trigo, P50: Pan 50 % trigo/ 50 % cebada, P75: Pan 25 % trigo/ 75 % cebada, P100: Pan 100 % cebada. P90: Pan 0 % trigo/ 90 % cebada/ 10 % gluten.

En la norma MX-F-159-S-1983 se establece un rango de fibra dietética total de 0.2 - 0.4 % para pan blanco, sin embargo todos los valores obtenidos en el estudio están por encima del rango. Para pan integral se reporta un valor promedio de fibra total de 7.5 - 8 % (Fundación Española de Nutrición, 2013), al compararse con los resultados de este estudio las muestras con harina de cebada presentaron valores mayores (P50, P75, P100, P90). Esto se atribuye principalmente a que la harina de cebada que tuvo con un alto contenido de fibra dietética 12.29 % en comparación con la harina de trigo 2.10 % (Tabla 7), el aumento de fibra total en el pan se debe a la formación de almidones resistentes; almidón que sufre transformaciones desde la gelificación, gelatinización y retrogradación por acomodo de moléculas (Quiroga, 2009; Pejcz *et al.*, 2017; Fan *et al.*, 2019). Los almidones resistentes son llamados así porque no son digeridos en el intestino delgado por las enzimas, formando parte de la fibra dietética total (Valdés, 2006).

La OMS (2018) recomienda un consumo de fibra de 25-30 g/día, donde este producto estaría cubriendo un 46 % de la recomendación, por lo que podría considerarse un alimento rico en fibra, esto con el P100, mientras que con la P50 se

podría cubrir hasta un 30 %; otros panes integrales comerciales aportan entre 7.5 – 8 % (Fundación Española de Nutrición, 2013) por lo que el pan elaborado proporciona una mayor cantidad de fibra. Se ha reportado diferentes funciones de la fibra en el cuerpo humano, dependiendo de su solubilidad destacando sensación de saciedad, lo que provoca una menor ingesta de alimentos; disminución del tiempo de tránsito intestinal de los alimentos, control del estreñimiento y aumento de la excreción, retraso de la absorción de glucosa y, por tanto, menor índice glicémico, menor contenido calórico en la dieta, mantenimiento y desarrollo de la microbiota intestinal (Matos-Chamorro y Chambilla-Mamani, 2010; Sánchez, *et al.*, 2015), por lo que este pan podría tener impacto en funciones biológicas por su alto contenido de fibra.

C. Contenido de β -glucanos

Los resultados del porcentaje de β -glucanos (Tabla 10) presentaron diferencias significativas entre las muestras, teniendo el menor valor el PT (0.27%), a su vez existe un aumento en las demás formulaciones conforme aumenta la proporción de harina de cebada, cabe mencionar que la H100 obtenida previamente tuvo valores altos de β -glucanos (Tabla 7), sin embargo se observó una disminución al momento del procesamiento.

La reducción de los β -glucanos se debe a una despolimerización causada principalmente por las enzimas β -glucanasas presentes en la harina de trigo (Andersson *et al.*, 2004; Anttila *et al.*, 2004; Trogha *et al.*, 2004), para que esta enzima este activa necesita un rango de temperatura de 35-45°C y un pH de 4.5-5.5 (Figuroa, 1985; Román *et al.*, 2006), durante la fermentación para la obtención del pan se sabe que las levaduras actúan de mejor manera a una temperatura de 25-30°C, alcanzando un pH de 5.4-5.8 para tener mayor desarrollo fermentativo y máxima producción de CO₂ en la pieza de pan ya formada (Wiggins, 2002; Pizarro *et al.*, 2014), es decir en la segunda fermentación, las temperaturas y pH fueron similares para la acción de las β -glucanasas, sin embargo las condiciones no fueron las óptimas para sus total acción sobre los β -glucanos, lo que podría explicar la disminución de los mismo durante el procesamiento.

En cuanto a la recomendación de 3 g de β -glucanos, las muestras P75, P100 y P90 cubren el 100% de lo indicado para tener un beneficio a la salud, por lo que podría considerarse con un alimento funcional, ya que entre sus funciones fisiológicas benéficas destaca la capacidad de disminuir niveles de lípidos, glucosa en sangre, principalmente, además de disminuir IMC, grasa visceral y tensión arterial teniendo un impacto en al incluirse en la dieta en pacientes con algunas enfermedades crónicas-degenerativas, como hipercolesterolemia, diabetes, enfermedades cardiovasculares (Pizarro *et al.*, 2014; FDA, 2018).

D. Contenido de cloruros de sodio

Los resultados obtenidos de los cloruros de sodio se encuentran en la Tabla 10, donde no se observó diferencia significativa, entre las muestras. Las proporciones recomendables de cloruros de sodio a utilizar en panificación van de 1 % hasta 3 % (Medina, 2013), en este estudio se adicionó una porción de 1.5 %.

La sal es utilizada para desarrollar sabor aunque desempeña otros papeles de gran importancia, actúa como regulador de la fermentación, ejerce una acción bactericida, y no permite fermentación indeseables dentro de la masa, a la vez mejora la plasticidad de la masa, ya que interfiere en la formación del gluten, debido a que la gliadina es menos soluble en agua con sal, aumentando el rendimiento en la panificación (Callejo *et al.*, 2002; Sánchez 2003; Calaveras 2004).

En relación al contenido de cloruros de sodio, se sabe que el consumo en exceso se relaciona con un incremento del riesgo de hipertensión arterial, en adultos el límite de consumo de sodio es de 2.4 g al día; en el caso del bolillo se ha reportado hasta 0.675 g de sodio, es decir, que podría aportar casi 34% de la ingesta diaria de este elemento (PROFECO, 2013), siendo un contenido muy alto, ya que la Agencia de Estándares Alimenticios del Reino Unido (FSA, 2018), considera “alto en sodio” a un producto que rebasa los 600 mg de sodio por cada 100 g. El producto obtenido aportó 0.06 g en cualquiera de las formulaciones, lo que indica que el agregar la cebada no aumentó el porcentaje de sodio, siendo un pan bajo en sodio que pueden consumir tanto personas sanas como con hipertensión arterial. Ya que en México, se

llegó a un acuerdo por el que se recomienda la disminución del uso de sal común o cloruro de sodio en la elaboración de pan como una medida de prevención de enfermedades cardiovasculares, y otras crónico-degenerativas (Diario Oficial de la Federación, 2012).

E. Dimensiones del producto y análisis de la estructura de la miga

La calidad del pan se percibe mediante los sentidos, principalmente la vista y el tacto, donde el tamaño y dimensiones del producto de panificación son un factor de calidad total desde el punto de vista del consumidor (Farrera-Rebollo *et al.*, 2012; Rathnayake *et al.*, 2018), sin embargo, estos parámetros deben evaluarse cuantitativamente para determinar la calidad del producto, a través del análisis de dimensiones del producto y el análisis de la estructura de miga de imagen, la distribución de las celdas en la miga, su tamaño e uniformidad mediante parámetros como el área de celdas, densidad y % de fase dispersa, que permite evaluar las condiciones de procesamiento, la actividad de la levadura, temperatura de fermentación y la estructura del gluten (Bajd y Sersa, 2011; Sozer *et al.*, 2011; Che *et al.*, 2013).

Tabla 11. Análisis de dimensiones de las piezas (65 g) con Vernier de las distintas formulaciones en cm.

Muestra	Largo	Ancho	Altura
PT	12.63 ± 0.32 ^a	10.43 ± 0.11 ^a	4.76 ± 0.05 ^a
P50	12.00 ± 0.00 ^b	7.46 ± 0.32 ^b	3.40 ± 0.30 ^b
P75	11.36 ± 0.05 ^c	7.00 ± 0.00 ^b	3.30 ± 0.05 ^c
P100	11.53 ± 0.15 ^{bc}	7.33 ± 0.05 ^b	2.53 ± 0.00 ^d
P90	10.10 ± 0.17 ^d	7.13 ± 0.40 ^b	3.00 ± 0.17 ^b

^{a-d} Letras superíndices diferentes indican la diferencia estadística significativa ($P < 0.05$) entre las muestras, de acuerdo a la prueba de comparación de medias de Duncan.

PT: Pan 100 % trigo, P50: Pan 50 % trigo/ 50 % cebada, P75: Pan 25 % trigo/ 75 % cebada, P100: Pan 100 % cebada. P90: Pan 0 % trigo/ 90 % cebada/ 10 % gluten.

En la Tabla 11 se aprecian las dimensiones del producto terminado (largo, ancho y altura del pan), siendo el PT el que mostró los valores significativamente más altos

en relación a las demás formulaciones en los tres parámetros (12.63, 10.43 y 4.76 cm) (Figura 5 A), el P90 tuvo el menor valor en largo (10.10 cm), en relación a la altura fue la muestra P100 la que presentó el dato más bajo (2.53 cm), lo cual es evidente en la Figura 5 D.

Los resultados de estructura de la miga del pan (Tabla 12), mostraron que PT obtuvo los valores mayores ($p < 0.05$) en área de celdas (37.23 mm^2), área promedio (1.14 mm^2) y porcentaje de fase dispersa (37.23%) en comparación con las demás formulaciones, en relación a la densidad de celdas, se observó que las muestras P50 y P90 tuvieron los valores más altos y similares mayores ($p < 0.05$) (42.33 y 40.41 cm^2). La muestra P100 no pudo ser analizada en el programa debido a que no tuvo desarrollo alveolar, siendo la miga muy cerrada (Figura 5D), ya que no cumplió con este parámetro de calidad se descartó para la evaluación sensorial, porque su estructura no era la característica de un pan. En la Figura 5 se observan todas las muestras, donde puede apreciar una rebanada el producto, además de las imágenes en escala de grises y en blanco con negro.

Tabla 12. Estructura de la miga de las distintas formulaciones de pan.

Muestra	Área celdas (mm^2)	Área promedio de celdas (mm^2)	Densidad de celdas por cm^2	% Fase dispersa (aire)
PT	37.23 ± 1.56^a	1.14 ± 0.33^a	27.16 ± 3.43^c	37.23 ± 1.56^a
P50	30.28 ± 2.50^b	0.70 ± 0.18^b	42.33 ± 2.80^a	30.28 ± 2.50^b
P75	18.05 ± 2.15^c	0.37 ± 0.11^c	36.66 ± 2.77^b	18.05 ± 2.15^c
P100	--	--	--	--
P90	29.74 ± 1.78^b	0.53 ± 0.08^{bc}	40.41 ± 1.97^a	29.74 ± 1.78^b

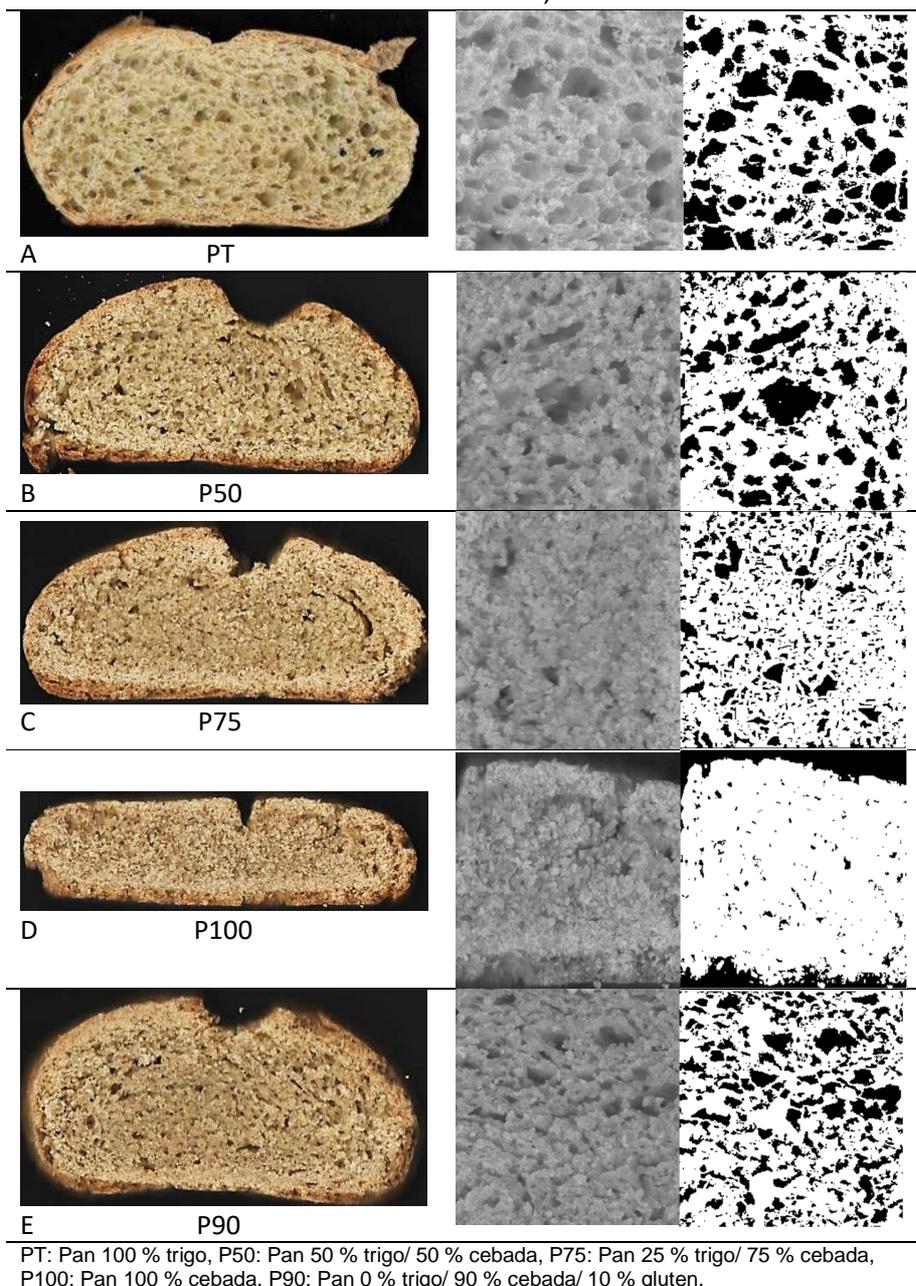
^{a-c} Letras superíndices diferentes indican la diferencia estadística significativa ($P < 0.05$) entre las muestras, de acuerdo a la prueba de comparación de medias de Duncan.

PT: Pan 100 % trigo, P50: Pan 50 % trigo/ 50 % cebada, P75: Pan 25 % trigo/ 75 % cebada, P100: Pan 100 % cebada. P90: Pan 0 % trigo/ 90 % cebada/ 10 % gluten.

En relación al área promedio de celdas (Tabla 12), se encontraron datos similares para bolillo (0.34 mm^2) y panes dulces como la concha y el cuerno (0.30 mm^2) (Farrera-Rebollo *et al.*, 2012) y datos similares a los reportado para otras clases de

panes a base de trigo ($1.70\text{-}0.56\text{ mm}^2$) (Svec y Hruskova, 2005), respecto a las dimensiones del producto varía dependiendo el tipo de pan y presentación, por lo que no se encontraron datos similares.

Figura 5. Imágenes de la miga en color, escala de grises y visualización en blanco y negro (algoritmo de Otsu de los tratamientos).



Las dimensiones del producto principalmente la altura, tiene una estrecha relación con el desarrollo de las celdas de la miga, parámetros que dependen principalmente de los ingredientes (Bravo y Moreno, 2015).

En relación a los ingredientes el agua y la harina son los más significativos que pueden afectar considerablemente la textura y las propiedades de la miga (Rathnayake *et al.*, 2018).

La harina de trigo es el tipo de harina más comúnmente utilizado para productos horneados con levadura, ya que contiene una mezcla de dos grupos de proteínas llamadas gliadinas y gluteninas (gluten) (Anton y Artfield, 2009; Hamada *et al.*, 2012). Durante el amasado e hidratación, estas dos proteínas se combinan entre sí y forman una red de gluten viscoelástica que puede retener gas con levadura durante la fermentación y el horneado (Wieser, 2007; Anton y Artfield, 2009; Nwanekezi, 2013). El almidón asociado a esta red de gluten se gelatiniza durante el calentamiento y forma una estructura semirrígida al producto junto con el coagulado gluten (la proteína del gluten se desnaturaliza durante el calentamiento) (Nwanekezi, 2013; Matignon y Tecante, 2017). Adicionalmente Rouillé y colaboradores (2005) declaró que la fracción soluble de la harina de trigo afecta tanto al volumen del pan y la finura de migas de manera opuesta. Aproximadamente el 50 % del agua resulta en una textura fina y ligera de miga, una masa preparada con un mayor porcentaje de agua puede resultar en una miga más gruesa con más dióxido de carbono (CO₂) (Mondal y Datta, 2008).

De acuerdo con la investigación llevada a cabo por He y Hosney (1992), la selección de harina con mayor cantidad y buena calidad de proteína principalmente gluten, puede generar un producto de panificación con estructura porosa, es decir, alveolos en la miga de tamaño grande e uniforme; sin embargo una red de gluten mal construida durante el amasado e hidratación, o de baja calidad, puede afectar la capacidad de retención de CO₂, resultando en un producto con menor volumen y alveolos pequeños e irregulares (Pejcz *et al.*, 2017). Como se puede observar en la Tabla 11 donde el P100 tuvo la menor altura, lo cual es evidente en la Figura 5 D,

además en la estructura de miga, este no tuvo el desarrollo alveolar característico de un pan, lo que evidencia la calidad del gluten presente en la cebada, ya que al agregar gluten de trigo mejoró de inmediato el desarrollo de la miga P90 (Tabla 12, Figura 5 E).

La calidad del pan depende de la harina de trigo, características de los ingredientes utilizados, como la grasa, azúcar, aditivos u otros, así como la calidad del gluten presente y la cantidad de agua, además de las condiciones de procesamiento aplicadas, resultando en grandes diferencias (Bravo y Moreno, 2015). El uso de las harinas distintas del trigo en la fabricación de pan cambian la estructura de miga de pan (Farrera-Rebollo *et al.*, 2012). Por lo que al agregar la harina de cebada, afecto negativamente la formación de la miga en el producto, disminuyendo el tamaño y la uniformidad de las celdas, aumentando la densidad, siendo la P75 la que tuvo los valores más bajos en comparación con las demás muestras (Tabla 12) y disminuyendo significativamente el volumen de las piezas.

La harina de cebada (H100) a pesar de presentar un mayor contenido de proteína en el análisis químico proximal (Tabla 6), el pan no desarrollo la estructura de miga adecuada (Tabla 12), lo cual puede deberse principalmente a que el gluten es de baja calidad debido a que en la cebada las proteínas de almacenamiento son las hordeínas, proteína similar pero que no presenta las características funcionales del gluten del trigo (Hernández-Espinosa *et al.*, 2015; Salgado-Albarrán *et al.*, 2015).

Igualmente la cebada presentó mayor porcentaje de fibra en comparación con la de trigo, componente que entra en competencia con el gluten, debilitando la estructura del mismo (De La Llave, 2004; Pejcz *et al.*, 2017), lo cual pudo afectar la estructura de miga.

6.3. Evaluación de cambios sensoriales y cambios de peso durante el almacenamiento.

El análisis sensorial es muy útil para conocer las propiedades organolépticas de los alimentos, además de ser un control de calidad y aceptabilidad del alimento elaborado.

6.3.1. Evaluación sensorial

En la Figura 6, se muestra el análisis sensorial mediante un gráfico radial correspondiente a las distintas formulaciones de pan en 48 horas.

La muestra P50 y P90 fueron los que presentaron valores más similares en todos los atributos, en las 0 horas (Figura 6 A), siendo el sabor el que presentó una diferencia significativa entre cada muestra, donde la muestra P90 tuvo el valor más bajo con respecto a las demás (Tabla 13).

En la Figura 6 B se puede observar que en los atributos de olor y color de corteza mantuvieron todas las muestras con valores muy similares (Tabla 13), siendo los atributos de sabor y textura los que mostraron más diferencias, impactando directamente en la preferencia general, donde se observa que la muestra P90 mostró los valores más bajos en los 3 atributos antes mencionados.

Con respecto a la Figura 6 C, las muestras PT, P25 y P50 mostraron valores muy similares en todos los atributos, siendo la muestra P25 la que obtuvo los valores más altos (Tabla 13), el atributo de sabor fue el atributo más apreciado nuevamente, obteniendo los valores más bajos la muestra P90, además en el atributo de textura se apreciaron mayores cambios, principalmente en las muestras P90 y P25.

En relación al transcurso de las horas, la muestra P90, mostró cambios significativos en el olor, sabor, textura y aceptación general donde disminuyó respecto a las 0 horas. La muestra P75, presentó cambios significativos en los atributos de olor, color de miga y textura, durante el transcurso de 48 horas, en relación a la muestra P50 solo en el color de la corteza no se observaron cambios significativos, en la muestra P25, se observaron cambios únicamente en el sabor y la textura, finalmente la

muestra PT no tuvo cambios en ningún atributo durante el tiempo de almacenamiento (Tabla 13).

Tabla 13. Evaluación sensorial por tipo de muestra y tiempo de almacenamiento

Atributos sensoriales	Horas de almacenamiento	Muestras				
		PT	P50	P75	P90	P25
Olor	0	3.75±0.99 ^{b,y}	4.15±0.82 ^{a,y}	4.06±0.74 ^{ab,y}	3.93±0.8 ^{ab,y}	4.06±0.7 ^{ab,y}
	24	3.77±0.85 ^{a,y}	3.95±0.81 ^{a,y}	3.74±0.84 ^{a,y}	3.72±0.98 ^{a,y}	4.03±0.72 ^{a,y}
	48	4.00±0.76 ^{ab,y}	3.86±0.65 ^{ab,z}	3.75±0.78 ^{bc,z}	3.54±0.91 ^{c,y}	4.07±0.68 ^{a,y}
Color corteza	0	3.78±0.95 ^{a,y}	3.98±0.83 ^{a,y}	3.78±0.75 ^{a,y}	3.93±0.82 ^{a,y}	4.07±0.86 ^{a,y}
	24	3.72±0.92 ^{a,y}	3.84±0.74 ^{a,y}	3.72±0.90 ^{a,y}	3.89±0.72 ^{a,y}	4.03±0.82 ^{a,y}
	48	3.96±0.92 ^{ab,y}	3.83±0.77 ^{ab,y}	3.69±0.80 ^{b,y}	3.72±0.81 ^{a,y}	4.06±0.78 ^{a,y}
Color miga	0	3.97±0.91 ^{a,y}	4.09±0.64 ^{a,y}	3.66±0.77 ^{b,y}	3.69±0.78 ^{b,y}	4.07±0.70 ^{a,y}
	24	3.87±0.93 ^{a,y}	3.78±0.66 ^{ab,z}	3.42±0.89 ^{c,yz}	3.57±0.72 ^{bc,y}	4.04±0.77 ^{a,y}
	48	4.00±0.91 ^{a,y}	3.75±0.72 ^{ab,z}	3.24±0.86 ^{c,z}	3.51±0.70 ^{bc,y}	3.92±0.88 ^{a,y}
Sabor	0	3.80±1.04 ^{b,y}	4.03±0.74 ^{ab,y}	3.43±1.05 ^{c,y}	3.18±0.95 ^{c,y}	4.27±0.85 ^{a,y}
	24	3.63±0.93 ^{ab,y}	3.80±0.82 ^{a,yz}	3.37±1.01 ^{b,y}	2.90±0.81 ^{c,yz}	3.95±0.81 ^{a,z}
	48	3.87±0.90 ^{ab,y}	3.69±0.84 ^{b,z}	3.31±0.93 ^{c,y}	2.72±0.85 ^{d,z}	4.06±0.82 ^{a,yz}
Textura	0	3.86±1.06 ^{b,y}	4.04±0.75 ^{ab,y}	3.48±0.86 ^{c,y}	3.74±0.94 ^{bc,y}	4.25±0.80 ^{a,y}
	24	3.65±0.93 ^{a,y}	3.83±0.83 ^{a,yz}	3.10±1.00 ^{b,z}	3.12±0.86 ^{b,z}	3.83±0.79 ^{a,z}
	48	3.93±0.95 ^{ab,y}	3.66±0.77 ^{b,z}	2.84±0.88 ^{c,z}	3.00±0.82 ^{c,z}	4.15±0.70 ^{a,y}
Preferencia general	0	3.86±0.85 ^{a,y}	4.03±0.63 ^{a,y}	3.51±0.84 ^{b,y}	3.33±0.95 ^{b,y}	4.15±0.76 ^{a,y}
	24	3.68±0.89 ^{b,y}	3.86±0.74 ^{ab,yz}	3.34±0.93 ^{c,y}	3.10±0.72 ^{c,yz}	4.00±0.82 ^{a,y}
	48	3.97±0.92 ^{ab,y}	3.77±0.69 ^{b,z}	3.22±0.76 ^{c,y}	2.98±0.66 ^{c,z}	4.07±0.80 ^{a,y}

Letras superíndices diferentes indican la diferencia estadística significativa ($P < 0.05$) entre las muestras, de acuerdo a la prueba de comparación de medias de Duncan; las letras ^{a-d} indican las diferencias entre las diferentes muestras de pan y las letras ^{y-z} entre los tiempos de la misma muestra.

PT: Pan 100 % trigo, P50: Pan 50 % trigo/ 50 % cebada, P75: Pan 25 % trigo/ 75 % cebada, P90: Pan 0 % trigo/ 90 % cebada/ 10 % gluten, P25: Pan 75 % trigo/ 25 % cebada.

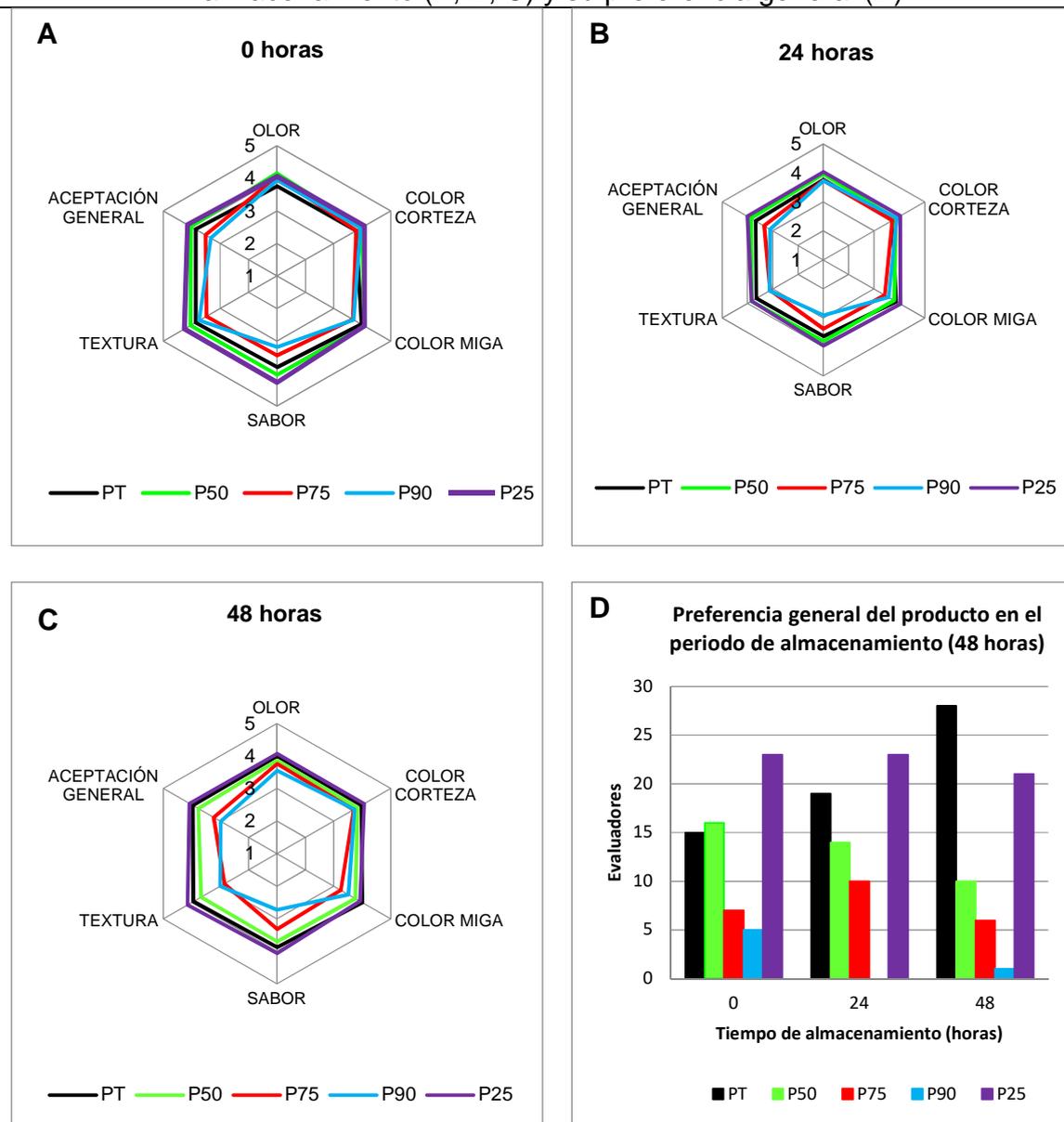
Se observa que en relación a la preferencia general la muestra PT, fue la que tuvo mayor aceptación al final del periodo de almacenamiento (Figura 6 D), seguida por la muestra P25; sin embargo, para las 48 horas disminuyó su preferencia en

comparación con las 0 horas, observando un patrón similar en la muestra P50. Finalmente las muestras P90 y P75 fueron menos aceptadas que las anteriores.

En cuanto al olor, el producto tuvo un olor característico a fermentación, lo cual se debe al tipo de preparación, ya que se realizó el pan utilizando levadura que permite una fermentación alcohólica llevada a cabo por levaduras que transforman los azúcares fermentables en etanol, CO₂ y algunos productos secundarios, provocando un olor característico, agradable y ligeramente alcohólico (Mesas y Alegre, 2002). Los objetivos de la fermentación son la formación de CO₂, para que al ser retenido por la masa ésta se esponje, y mejorar el sabor, textura del pan como consecuencia de las transformaciones que sufren los componentes de la harina (Wiggins, 2002). Donde la muestra P90 y P75 tuvieron un olor alcohólico más fuerte que las muestras con mayor porcentaje de trigo.

En relación al sabor, fue un atributo que tuvo importantes cambios, siendo las muestras PT y P25 las que mostraron mejor sabor, ya que se apreció un sabor amargo en las concentraciones más altas de cebada, datos que coinciden con los reportados por Márquez (2007), quien elaboró y evaluó un producto de panificación con harina de cebada, obteniendo igualmente un sabor amargo en el producto. Este sabor amargo puede deberse a la presencia de compuesto como aminoácidos, péptidos, sulfamidas, flavonoides, fenoles, iso α - ácidos compuestos que propician dicho sabor (Villegas-Ruiz *et al.*, 2010; Suárez, 2013.).

Figura 6. Análisis sensorial de las distintas formulaciones de pan en 48 horas de almacenamiento (A, B, C) y su preferencia general (D).



PT: Pan 100 % trigo, P50: Pan 50 % trigo/ 50 % cebada, P75: Pan 25 % trigo/ 75 % cebada, P90: Pan 0 % trigo/ 90 % cebada/ 10 % gluten, P25: Pan 75 % trigo/ 25 % cebada.

En relación a la textura el principal motivo puede deberse al gluten, ya que es la principal responsable de proporcionar una buena textura, debido a que determinadas proporciones producen una masa consistente, tenaz y con ligazón entre sí,

ofreciendo una determinada resistencia a la que puede darse la forma deseada, resistente a la presión de los gases producidos por la fermentación, para obtener el levantamiento de la masa (Von-Atzingen *et al.*, 2005; Rosenfelder *et al.*, 2013). De igual manera la hidratación de la masa condiciona el desarrollo del gluten, junto con el amasado, además de la fermentación permiten observar el alveolado característico que igualmente impacta en la textura, permitiendo la suavidad de la miga (Wiggins, 2002; Pejcz *et al.*, 2017).

Finalmente el color del producto se vio influenciado principalmente por los ingredientes utilizados, mientras la harina sea más blanca el color de la miga lo será, sin embargo un harina oscura o integral permitirá que la miga se torne un más oscura, proporcional al ingrediente principal del pan, la harina; al agregar ingredientes como el huevo o la mantequilla permitirá adquirir un color ligeramente crema o más amarillo, sin embargo no genera cambios de color de gran relevancia (Márquez, 2007).

Otros ingredientes que influyen en el color son los azúcares ya que reducen la coloración de la corteza, así como su espesor, y dan productos de corteza flexible, no crujiente (Mesas y Alegre, 2002). La sal, al igual que los azúcares, retarda la fermentación, y su exceso aumenta el color de la corteza, aparte de la modificación de su sabor, la cantidad de agua incorporada a la masa, tiene también su repercusión en la coloración de la corteza. Cuanto más blanda sea la masa, más oscura será la coloración de la corteza, y al contrario (Wiggins, 2002; Mesas y Alegre, 2002).

También el punto de fermentación favorece el tono de la corteza, una baja intensidad de fermentación favorece el tono rojizo de la corteza, llegando a producirse manchas más oscuras cuando el volumen de la pieza es escaso; cuando la actividad fermentativa es muy intensa, como en las masas con alto contenido en levadura, la coloración de la corteza es más pálida. La cocción es un factor de importancia para la coloración de la corteza, ya que ocurre la reacción de Maillard, que es un conjunto

de reacciones entre aminoácidos y azúcares reductores, dando el color característico de la corteza del pan (Valdés, 2006; Bravo y Moreno, 2015).

6.3.2. Pérdida de peso durante el almacenamiento

En la Figura 7 se observa el porcentaje de pérdida de peso durante 48 horas de almacenamiento, donde la muestra P75 mostró la mayor pérdida de peso, la muestra PT fue la que tuvo menor pérdida de peso durante el almacenamiento, donde las demás muestras tuvieron comportamientos similares, como se observa en la Figura 7. Observándose de igual manera una diferencia significativa menor de pérdida de peso de las 48 horas con respecto a las 0 horas (Tabla 14).

Tabla 14. Pérdida de peso durante el almacenamiento.

	0 horas	24 horas	48 horas
PT	0.00±0.00 ^{a,z}	0.19±0.00 ^{c,y}	0.28±0.00 ^{b,x}
P50	0.00±0.00 ^{a,z}	0.24±0.01 ^{b,y}	0.30±0.00 ^{ab,x}
P75	0.00±0.00 ^{a,z}	0.30±0.00 ^{a,y}	0.32±0.01 ^{a,y}
P90	0.00±0.00 ^{a,z}	0.22±0.01 ^{bc,y}	0.31±0.01 ^{ab,x}
P25	0.00±0.00 ^{a,z}	0.21±0.04 ^{bc,y}	0.29±0.03 ^{ab,x}

Letras superíndices diferentes indican la diferencia estadística significativa ($P < 0.05$) entre las muestras, de acuerdo a la prueba de comparación de medias de Duncan; entre cada tratamiento (^{a-c}) y entre cada 0, 24 y 48 horas (^{x,y,z}).

PT: Pan 100 % trigo, P50: Pan 50 % trigo/ 50 % cebada, P75: Pan 25 % trigo/ 75 % cebada, P90: Pan 0 % trigo/ 90 % cebada/ 10 % gluten, P25: Pan 75 % trigo/ 25 % cebada.

La pérdida de peso durante el almacenamiento, se debe a la pérdida de agua por la migración del agua hacia el entorno, la miga del pan recién horneado tiene una actividad de agua superior a la de la corteza; esta diferencia provoca que agua que se encuentra en el interior del pan se desplace a la superficie provocando la resequeidad de la miga y la pérdida de la naturaleza crujiente de la corteza; esto debido a la retrogradación del almidón; lo que impacta directamente en la textura de la pieza (Leung *et al.*, 1983; Rogers *et al.*, 1988; He y Hosney, 1990; Valdés, 2006; Pejcz *et al.*, 2017), motivo por el cual se pudieron dar los cambios en la evaluación sensorial, en el atributo de textura (Figura 6C). Investigaciones también sugieren que el gluten es un compuesto de importancia en el envejecimiento del pan, ya que puede servir como reservorio de humedad, amortiguando cambios en la hidratación

del almidón (Valdés, 2006; Blandino *et al.*, 2015), a lo cual pudo deberse a que los panes con mayor cantidad de harina de trigo mostrarán menor pérdida de humedad (Figura 7).

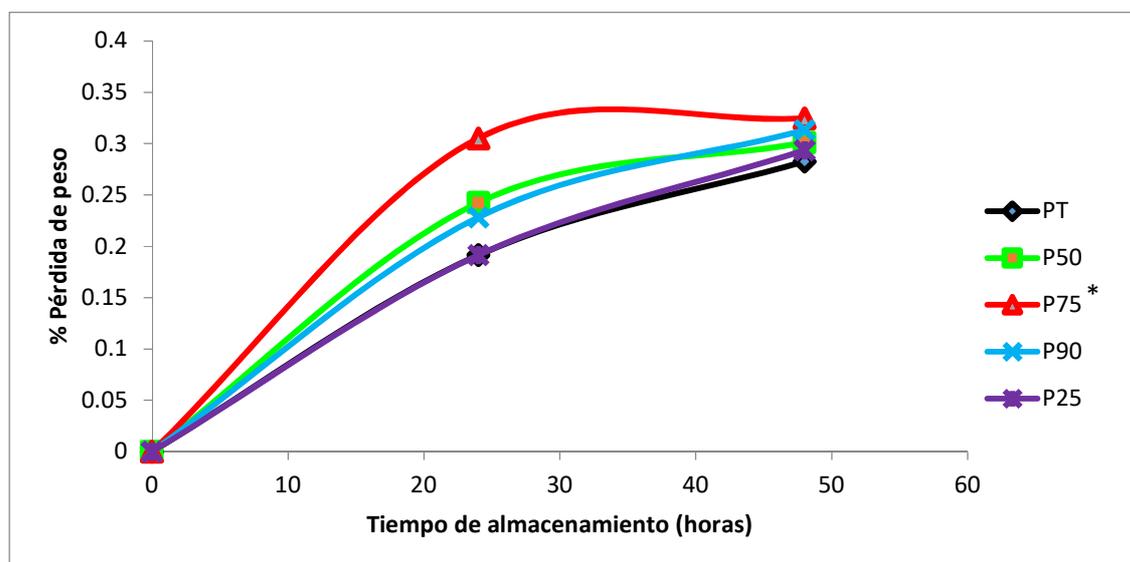


Figura 7. Pérdida de peso durante el almacenamiento.

* Indica la diferencia significativa entre las muestras.

PT: Pan 100 % trigo, P50: Pan 50 % trigo/ 50 % cebada, P75: Pan 25 % trigo/ 75 % cebada, P90: Pan 0 % trigo/ 90 % cebada/ 10 % gluten, P25: Pan 75 % trigo/ 25 % cebada.

En relación a los cambios del producto durante el almacenamiento, también se pueden identificar cambios en el sabor, debido a que el pan recién horneado tiene compuestos volátiles, formados durante la fermentación y el horneado, compuestos como alcoholes, aldehídos, diacetilos, cetonas y éteres entre otros, conforme el tiempo transcurre, el sabor del pan fresco se pierde ya que los compuestos se evaporan, además de que la pérdida de humedad puede propiciar la concentración del sabor del producto (Wiggins, 2002; Luna-Fernández, 2011; Matignon y Tecante 2017), motivo por el cual pudo tener la sensación de sabor más amargo en los panes con harina de cebada (P50 y P75), provocando una disminución de la aceptación de los panes con mayor porcentaje de harina de cebada (P50 y P75) con el tiempo de almacenamiento (Figura 6 C, 6 D).

La pérdida mayor de humedad en las formulaciones con mayor contenido de harina de cebada, pudo deberse en parte a la retrogradación del almidón, además a las

proporciones de almidón y proteínas presentes, ya que en comparación con la harina de trigo, la cebada presentan diferencias, 75% de amilopectina y 25% de amilosa, trigo, proteínas 9-14% de las cuales 80-85% será gluten (Bravo y Moreno, 2015; Matsushita *et al.*, 2019), cebada 95-100% de amilopectina y proteínas 5-9%, 58-62% gluten (UNAM, 2013). Por lo que la harina de cebada, tendrá mayor pérdida de humedad.

Otro factor de importancia para una mejor retención de agua con respecto a las harinas, serán los mejoradores presentes en la harina de trigo, que fue una harina comercial, por lo que en su composición se encuentra presente el ácido L-ascórbico, se utiliza principalmente para reforzar las cadenas de gluten, facilitando la hidratación y permitiendo una mayor retención de humedad (Bravo y Moreno, 2015; Matsushita *et al.*, 2019), sin embargo la harina de cebada no presenta ningún tipo de tratamiento o aditivo extra que promueva la retención de humedad.

La fibra dietética soluble presente en la harina de cebada también interviene en la retención y pérdida de humedad, ya que se ha observado que interfiere con la estructura del gluten, compitiendo por la absorción de agua y provocando una mayor pérdida de humedad (De La Llave 2004; Pejcz *et al.*, 2017).

7. CONCLUSIONES

El grano de cebada presentó un alto rendimiento en obtención de harina (90.92 %), comparado con otras variedades de cebada y considerándose una harina integral.

La harina de cebada muestra un mayor porcentaje de humedad, cenizas, proteínas, grasas, fibra dietética total y β -glucanos, influyendo directamente en sus propiedades nutricionales, mostrando una composición química significativamente mayor que la harina de trigo a excepción de los carbohidratos.

Las muestras de pan presentaron alrededor del 12 al 16 % de proteína, 15 % de grasa y 2 % de cenizas. La muestra de pan 100 % harina de cebada (P100) seguido de la 90% (P90) presentó los mayores porcentajes de ceniza, proteína, fibra dietética total y β -glucanos debido a la mayor proporción de harina de cebada, aumentando el contenido nutricional del pan.

El consumo de 100 g del pan elaborado con dichas formulaciones puede cubrir entre 17-55 % de la recomendación de fibra dietética, además de los 3 g de β -glucanos recomendados para un efecto benéfico en la salud.

El pan elaborado presentó un valores bajos de cloruros de sodio (0.06 %). El uso de la cebada tuvo un impacto en la disminución de las dimensiones del producto y en la formación de la estructura de la miga observándose demasiado compacta y poco aireada (P100), lo que fue mejorado al adicionar gluten de trigo en el caso de P90.

En la evaluación sensorial, los atributos de sabor y textura fueron los más apreciados y los que exhibieron mayor diferencia entre cada muestra y tiempo de almacenamiento. El aumento del porcentaje de harina de cebada, afectó negativamente la textura, el sabor y aceptación general del producto.

La muestra 90 % harina de cebada (P90) presentó una menor aceptación con respecto al sabor, debido a la nota amarga impartida por la cebada, mientras que la muestra 25 % cebada (P25) presentó las mejores características sensoriales después del pan control (PT) incluso durante el almacenamiento.

Los panes con mayores porcentajes de harina integral de cebada presentaron mayores cambios durante el almacenamiento (pérdida de peso) en comparación con el pan de trigo (PT), dado que la harina comercial es adicionada con mejoradores lo cual incrementa sus propiedades de panificación.

8. PERSPECTIVAS

Resulta de interés evaluar la actividad diastática de la harina de cebada, así como la cantidad y propiedades del gluten presente en dicha harina, además del comportamiento del almidón mediante microscopía electrónica y su retrogradación, ya que son factores con impacto en los productos de panificación que no pudieron evaluarse en este estudio.

Debe realizarse el análisis de perfil de textura (APT) en las masas y en el producto para obtener datos cuantitativos y su relación con el análisis sensorial ya permitirá conocer el efecto de la fibra presente en la harina de cebada y cómo influye en las características reológicas de una masa de panificación.

Se recomienda utilizar un diseño experimental de optimización para identificar las combinaciones de harinas con mejores características y propiedades.

Evaluar las propiedades antioxidantes en la harina de cebada y en el pan, ya que se ha reportado que la cebada presenta actividad antioxidante, sin embargo se desconoce sus cambios durante el procesamiento.

Identificar a detalle los minerales, ácidos grasos, aminoácidos y componentes de la fibra dietética además del β -glucano, para identificar su impacto nutricional, así como la digestibilidad y acceso a estos componentes; además de determinar su aporte calórico y el índice glucémico para ser comparado con un pan comercial.

Evaluar el peso molecular de β -glucanos presente en la harina de cebada obtenida ya que se sabe que su actividad fisiológica depende del tamaño de la molécula y los cambios durante el procesamiento, como la fermentación ya que este proceso puede modificar de manera importante sus características y los β -glucanos producidos por una levadura tiene propiedades y características distintas a los provenientes de un cereal.

La intervención con paciente del producto es de suma importancia ya que permitiría identificar la asimilación del producto y su impacto en parámetros como índice

glucémico, disminución de colesterol, LDL, glucosa postprandial, factores en los que se ha reportado cambios beneficios que se le atribuyen al uso de β -glucanos presente en la cebada, utilizando la formulación P75 o bien la P90 formulaciones que presentaron un contenido de β -glucanos mayor a 3 g.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aldughpassi A., Abdel-Aal E. 2012. Barley cultivar, kernel composition, and processing affect the glycemic index. *J Nutr.* 142: 1666–1671.
- Ali R., Shakeel M., Asad S., Ahmed R., Gufran S., Mobin L. 2014. Relationship of damaged starch with some physicochemical parameters in assessment of wheat flour quality. *Pak J Bot.* 46(6): 2217-2225.
- Åman P., Graham H. 1987. Analysis of total and insoluble mixedlinked (1-3),(1-4)- β -D-glucans in barley and oats. *J Agric Food Chem.* 35:704-709.
- Åman P., Hesselman K., Tilly A. 1985. The variation in chemical composition of Swedish barley. *J Cereal Sci.* 3: 73-77.
- American Diabetes Association (ADA). 2015. Índice glucémico y diabetes 2015. Dirección: <http://archives.diabetes.org/es/alimentos-y-actividad-fisica/alimentos/que-voy-a-comer/compreension-de-los-carbohidratos/indice-glucemico-y-diabetes.html>. Actualización: 02/03/2015. Acceso: 26/09/2019.
- Andersson A., Andersson R., Aman P. 2001. Starch and by-products from a laboratory-scale. Barley starch isolation procedure. *Cereal Chem.* 78(5):507-508.
- Andersson A., Armo E., Grangeon E., Fredriksson H., Andersson R., Aman P. 2004. Molecular weight and structure units of (1-3, 1-4)- β -glucans in dough and bread made from hull-less barley milling fractions. *J Cereal Sci.* 40:195–204.
- Andersson A., Cajsá E., Andersson R., Regnér S., Aman, P. 1999. Chemical and physical characteristics of different barley samples. *J Sci Food Agric.* 79:979-981.
- Andersson J., Baird P., Davis R., Ferreri S., Knudtson M., Koraym A., Waters V., Williams C. 2009. Health benefits of dietary fiber. *Nutr Rev.* 67(4):188–205.
- Andersson M., Cook J., Stone B. 1978. Enzymatic determination of (1-3)(1-4)- β -glucans in barley grain and other cereals. *J Inst Brew.* 84: 233-239.
- Anton A., Artfield S. 2009. Hydrocolloids in gluten-free breads: A review. *Int J Food Sci Nutr.* 59(1):11–23.

- Anttila H., Wood P., Brummer Y., Sontag-Strohm T., Tosh S., Wang Q. 2004. The effect of processing on the molecular weight and extractability of oat β -glucan using a method to simulate physiological digestion. En: *Proceedings of the AACCC/TIA Joint Meeting*. San Diego. pp. 150.
- AOAC, 1984, Method 920.151, 920.152 Official Methods of Analysis International, 13th Edition.
- AOAC, 1990, Method 940.26, 945.16, 960.52, 985.29 y 995.16. Official Methods of Analysis International, 15th Edition.
- Aoe S., Ichinose Y., Kohyama N., Komae K., Takahashi A., Abe D., Yoshioka T., Yanagisawa T. 2017. Effects of high β -glucan barley on visceral fat obesity in Japanese individuals: A randomized, double-blind study. *J Nutr* 42: 1–6.
- Aparicio A., Ortega R., 2016. Efectos del consumo del β -glucanos de la avena sobre el colesterol sanguíneo: una revisión. *Rev Esp Nutr Hum Diet.* 20(2): 127–139.
- Arranz-Otaegui A., González I., Ramsey M., Fuller D., Richter T. 2018. Archaeobotanical evidence reveals the origins of bread 14,400 years ago in northeastern Jordan. *Proc Natl Acad Sci.* 115(31):7925-793.
- Bacic A., Fincher G., Stone B. 2009. Chemistry, Biochemistry, and Biology of (1-3)-[β]-Glucans and Related Polysaccharides. Elsevier/Academic. Press. Amsterdam. pp. 5-46.
- Badui, S. 2006. Vitaminas y nutrimentos inorgánicos. En: *Química de los alimentos*. (4ta ed). Ed. Pearson. pp. 391-398.
- Bajd F., Sersa A. 2011. Continuous monitoring of dough fermentation and bread baking by magnetic resonance microscopy. *Mag Resonan Ima.* 29 (3): 434–442.
- Balandrán-Quintana R., Mercado-Ruiz J., Mendoza-Wilson A. 2015. Wheat bran proteins: A review of their uses and potential. *J Food Rev Inter.* 31(3): 279-293.
- Barrera G. 2014. Efecto del almidón dañado sobre las propiedades de las masas panarias y la calidad de los panificados. Tesis de doctorado. Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba. Argentina. pp. 50-53.
- Başman A., Köksel H. 2001. Effects of barley flour and wheat bran supplementation on the properties and composition of Turkish flat bread, yufka. *Eur Food Res Technol.* 212: 198-202.

- Bejarano E., Bravo M., Huamán M., Huapaya C., Roca A., Rojas E. 2002. Tabla de Composición de Alimentos Industrializados. Ministerio de Salud Instituto Nacional de Salud Centro Nacional de Alimentación y Nutrición. Lima. Perú. pp. 21.
- Belitz H., Grosch W. 2000. Química de los Alimentos. (2ª) Ed. Acribia. Zaragoza. España. pp. 725.
- Blandino M., Locatelli M., Gazzola A., Coisson J., Giacosa S., Travaglia F., Bordiga M., Reyneri A., Rolle L., Arlorio M. 2015. Hull-less barley pearling fractions: Nutritional properties and their effect on the functional and technological quality in bread-making. *J Cereal Sci.* 65(2): 48-56.
- Bravo E., Moreno L. 2015. Evaluación de propiedades fisicoquímicas y sensoriales del pan tipo molde con sustitución parcial de harina de chontaduro. Tesis de licenciatura. Universidad de la Salle. Bogotá D.C. pp. 26-29.
- Brummer Y., Duss R., Wolever T., Tosh S. 2012. Glycemic response to extruded oat bran cereals processed to vary in molecular weight. *J Cereal Chem.* 89: 255–261.
- Calaveras J. 2004. Tratado de panificación y bollería. Ed Mundi-Prensa. Madrid. España. pp. 10-12.
- Calderón C. 2005. Desarrollo de un pan molde alto en fibra usando harina de trigo y avena integral. Tesis de licenciatura. Zamorano. Honduras. pp. 15.
- Callejo G., Rodríguez G., González G. 2002. Industrias de cereales y derivados. Ed. Mundi-Prensa. Madrid, España. pp. 21, 25-27.
- Cámara Nacional de la Industria Panificadora (CANAINPA). 2015. Dirección: www.canainpa.com.mx/. Acceso: 15/08/17.
- Camberos M. 2000. La seguridad alimentaria de México en el año 2030. *Ciencia Ergo Sum.* 7(1): 49-55.
- Casanueva E., Kauffer–Horwitz M., Pérez-Lizaur A., Arroyo P. 2008. Evaluación del estado de Nutrición. En: *Nutriología Médica*. 3ra Edición. (ed) Médica Panamericana y Fundación Mexicana para la Salud. México. pp: 747-783.
- Cauvain S. 2002. Pan: el producto. En: *Fabricación del pan*. Ed Acribia, España. pp. 17, 21.

- Cauvain S. 2002. Procesos de panificación. En: *Fabricación del pan*. Ed Acribia, España. pp. 27.
- Cerda-Mejía L., Cerda V., Pilamala A., Moreno C., Pérez A. 2017. Proteína de harinas de maíz, cebada, quinua, trigo nacional y papa: características y funcionalidad como sustitutos de la proteína de harina de trigo importado en la producción de pan y fideos. *Rev Ama Cien Tec* 6(3):201-216.
- Charlton K., Tapsell L., Batterham M., O'Shea J., Thorne R., Beck E., Tosh S. 2012. Effect of 6 weeks' consumption of beta-glucan-rich oat products on cholesterol levels in mildly hypercholesterolaemic overweight adults. *Br J Nutr.* 107(7): 1037-1047.
- Che N., Chin N., Yusof Y., Abdul M. 2013. Measurement of bread crumb texture via imaging of its characteristics. *J Food Agr Environ.* 11(2): 48–55.
- Clark S., Costello M., Drake M., Bodyfelt F. 2009. The sensory evaluation of dairy products. (2ª) Ed. Springer. New York. USD: pp 573.
- CODEX-STAN-152-1985. Norma del CODEX para la harina de trigo. (REV. 1 - 1995). Dirección: <http://www.colpos.mx/bancodenormas/ninternacionales/CODEX-STAN-152-1985.pdf>. Acceso: 09/09/2018.
- De La Llave A. 2004. Efecto de la adición de fibra soluble sobre las características fisicoquímicas y sensoriales en un producto de panificación. Tesis de licenciatura. Universidad de las Américas Puebla. Puebla. México. pp. 29-43.
- Dendy D., Dobraszczyk B. 2004. Cereales y productos derivados. Química y Tecnología. Ed. Acribia. Zaragoza. España. pp. 403-421.
- Diario Oficial de la Federación (DOF). 2012. Acuerdo por el que se recomienda la disminución del uso de sal común o cloruro de sodio en la elaboración de pan como una medida de prevención de enfermedades cardiovasculares, y otras crónico-degenerativas. Dirección: http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5256201&fecha=22/06/2012&print=true. Actualización: 22/06/2012. Acceso: 25/09/2019.
- Dikeman C., Fahey G. 2006. Viscosity as related to dietary fiber: A review. *Critical Rev Food Sci Nutr.* 46(8): 649-63.

- Donkelaar L., Noordman T., Boom R., Goot A., 2015. Pearling barley to alter the composition of the raw material before brewing. *J Food Eng.* 150: 44-49.
- Dorwin W. 2008. Flour for Man's Bread: A History of Milling. Ed MINNE. Minnesota. USA. pp. 400.
- Escudero E., González P. 2006. La fibra dietética. *Nutr Hosp.* 21(2): 61-72.
- Fadda C., Sanguinetti A., Del Caro A., Collar C., Piga A. 2014. Bread staling: updating the view. *Ins Food Technol.* 13:473-492.
- Fan X., Zhu J., Dong W., Sun Y., Lv C., Guo B., Xu R. 2019. Comparison of pasting properties measured from the whole grain flour and extracted starch in barley (*Hordeum vulgare* L.). *PLoS ONE.* 14(5):1-11.
- Farrera-Rebollo R., Salgado-Cruz M., Chanona-Pérez J., Gutiérrez-López G., Alamilla-Beltrán L., Calderón-Domínguez G. 2012. Evaluation of image analysis tools for characterization of sweet bread crumb structure. *Food Biopro Technol.* 5:474–484.
- Felizardo F., Freire J. 2018. Characterization of barley grains in different levels of pearling process. *J Food Eng.* 232: 29-35.
- Flores M. 2001. Los vinos, los quesos y el pan. Ed. Limusa, Noriega editores. DF. México. pp. 10-56.
- Food and Drug Administration USA (FDA). 2018. Dirección: www.registrarcorp.com. Actualización: 19/06/2018. Acceso:01/07/19.
- Fundación Española de Nutrición. Tablas de composición de alimentos. Mantequilla. Dirección: www.fao.org/ag/againfo/subjects/es/butter.html. Actualización: 2013. Acceso: 29/09/2018.
- Fundación Española de Nutrición. Tablas de composición de alimentos. Pan integral de trigo. Dirección: www.fen.org.es/mercadoFen/pdfs/panintegral.pdf. Actualización: 2013. Acceso: 29/09/2018.
- Gálvez A., Flores I., González A. 2006. Proteínas. En: *Química de los alimentos*. (4ta) Ed. Pearson Educación. México. pp. 210.
- Grando S., Gómez H. 2005. Food Barley: Importance, uses and local knowledge. Ed. ICARDA. Cordoba. España. pp.14-17.

- Greene K. 2003. Technological innovation and economic progress in the ancient world: M.I. finley re-considered. *Econo History Rev.* 53 (1): 29-59.
- Hamada S., Aoki N., Suzuki Y., 2012. Effects of water soaking on bread-making quality of brown rice flour. *Food Sci Technol Res.* 18(1):25–30.
- Hamelman J., 2013. El pan: Manual de técnicas y recetas de panadería. Ed Libros con miga. pp. 29.
- Harol E., Ronald S., Ronald S. 1987. Análisis químico de alimentos de pearson, (2ª) Ed. Compañía editorial continental S. A. de C. V. México. pp. 725-731.
- Hartvigsen M., Gregersen S., Lærke H., Holst J., Knudsen B., Hermansen K. 2014. Effects of concentrated arabinoxylan and β -glucan compared with refined wheat and whole grain rye on glucose and appetite in subjects with the metabolic syndrome: a randomized study. *Eur J Clin Nutr.* 68 (2): 84–90.
- He H., Hosney R. 1990. Changes in bread firmness and moisture during long term storage. *Cereal Chem.* 67(6): 603-605.
- He H., Hosney R. 1992. Factors controlling gas retention in nonheated doughs. *Cereal Chem.* 69(1):1–6.
- Heinrich E., Reinhart P. 2007. *Six thousand years of bread: Its holy and unholy history* (1era ed). Ed Skyhorse Publishing. USA. pp. 416.
- Hensperger B., Chuck W., Noel B. 2002. Bread. Ed. Simon & Schuster Source. New York. USD. pp 6-8.
- Hernández O., Franco I. 2016. Efecto sobre las propiedades reológicas y panificables de la enzima transglutaminasa en masas con almidón de yuca (*Manihot esculenta*). *RIDTEC.* 12(2): 56-67.
- Hernández-Espinosa N., Reyes-Reyes M., González-Jiménez F., Nuñez-Bretón C., Cooper-Briblesca B. 2015. Importancia de las proteínas de almacenamiento en cereales (prolaminas). *Rev Especializada Cien Salud.* 18(1):3-7.
- Ho H., Sievenpiper J., Zurbau A., Mejia S., Jovanovski E., Au-Yeung F., Jenkins A., Vuksan V. 2016. A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials of the effect of barley β -glucan on LDL-C, non-HDL-C and apoB for cardiovascular disease risk reduction. *Eur J Clin Nutr.* 70(11):1239-1245.

- Holopainen-Mantila U. 2015. Composition and structure of barley (*Hordeum vulgare* L.) grain in relation to end uses. (1era ed). Ed VTT Science. Finlandia. pp. 10-21.
- Hussein A., Kamil M., Hegazy N., Abo El-Nor S. 2013. Effect of wheat flour supplement with barley and/or corn flour on balady bread quality. *Pol J Food Nut Sci.* 63(1), 11-18.
- Ibrügger S., Kristensen M., Poulsen M., Mikkelsen M., Ejsing J., Jespersen B., Dragsted L., Engelsen S., Bugel S. 2013. Extracted oat and barley β -glucans do not affect cholesterol metabolism in young healthy adults. *J Nutr.* 143(10): 1579-1585.
- INIFAP. 2010. Tecnología de producción de cebada forrajera de temporal en el altiplano potosino. Ficha Técnica. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Disponible en: <http://www.campopotosino.gob.mx/modulos/tecnologiasdesc.php?id=126>. Acceso: 09/08/17.
- Instituto de Estudios del Huevo. 2009. El gran libro del huevo. Ed. Everest. España. pp. 38-48.
- Kirk R., Sawyer R., Egan H. 2002. Métodos químicos generales. En: *Composición y análisis de alimentos de Pearson*. Ed. CECSA. pp 9-46.
- Koletta P., Iraki M., Papageorgiou M., Skendi A. 2014. Physicochemical and technological properties of highly enriched wheat breads with whole grain non wheat flours. *J Cereal Sci.* 60(1): 561-568.
- Kristensen M., Bugel S. 2011. A diet rich in oat bran improves blood lipids and hemostatic factors, and reduces apparent energy digestibility in young healthy volunteers. *Eur J Clin Nutr.* 65(9): 1053-1058.
- Lahouar L., Ghrairi F., El Arem A., Medimagh S., El Felah M., Salem H., Achour L. 2016. Biochemical composition and nutritional evaluation of barley rihane (*Hordeum vulgare* L.). *J Tradit Complement Altern Med.* 14(1): 310-317.
- Lakhan S., Vieira K. 2008. Nutritional therapies for mental disorders. *Nutrition J.* 7(1): 2-9.

- Lazaridou A., Biliaderis C. 2007. Molecular aspects of cereal β -glucan functionality: Physical properties, technological applications and physiological effects. *J Cereal Sci.* 46(2): 101-118.
- Leung H., Magnuson J., Bruinsma B. 1983. Water binding of wheat flour doughs and breads as studied by deuterium relaxation. *J Food Sci.* 48(6):95-99.
- López P., Prieto F., Gaytán M., Román A. 2007. Caracterización fisicoquímica de diferentes variedades de cebada cultivadas en la región Centro de México. *Rev Chil Nutr.* 34:1-12.
- Luna- Fernández M., Bárcenas-Pozos M. 2011. Envejecimiento del pan: causas y soluciones. *Temas selectos de ingeniería en alimentos.* Universidad de las Américas Puebla. 5(2):44-53.
- Macoto C. 2014. Evaluación de mermas en la materia prima durante la elaboración de panes en la Panadería y Repostería "El Hogar". Tesis de licenciatura. Escuela Agrícola Panamericana. Zamorano. Honduras. pp. 15-18.
- Márquez A., Acosta K., Román A. 2007. Elaboración y evaluación de un producto de panificación con harina de cebada. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Hidalgo. México. pp. 5-25, 63-66.
- Matignon A., Tecante A. 2017. Starch retrogradation: From starch components to cereal products. *Food Hydrocolloids.* 68(2): 43-52.
- Matos-Chamorro A., Chambilla-Mamani E. 2010. Importancia de la fibra dietética, sus propiedades funcionales en la alimentación humana y en la industria alimentaria. *Rev Investig Cienc Tecnol Aliment.* 1(1): 2218-3310.
- Matsushita K., Terayama A., Goshima D., Santiago D., Myoda T., Yamauchi H. 2019. Optimization of enzymes addition to improve whole wheat bread making quality by response surface methodology and optimization technique. *J Food Sci Technol.* 56(3):1454-1461.
- Medina P. 2013. Evaluación sensorial de pan de pulque. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro División de Ciencia Animal. Coahuila. México. pp. 31-39.
- Megazyme. 2017. Mixed-Linkage β -Glucan Assay Procedure (McCleary Method), K-BGLU 02/17. *Boletín técnico.* pp. 1-20.

- Mesas J., Alegre M. 2002. El pan y su proceso de elaboración. *Ciencia y Tecnología Alimentaria. Soc Mex Nutr Tec Alim.* 3 (5): 307-313.
- Miller J. 2014. CODEX-aligned dietary fiber definitions help to bridge the 'fiber gap'. *Nut J.* 13(1):2-34.
- Mondal A., Datta A. 2008. Bread baking - A review. *J Food Eng.* 86(4):465–474.
- Morales-Ortega A., Carvajal-Millán E., López-Franco Y., Rascón-Chu A., Lizardi-Mendoza J., Torres-Chávez P., Campa-Mada A. 2013. Characterization of water extractable arabinoxylans from spring wheat flour: Rheological properties and microstructure. *Molecules.* 18(7): 8417-8428.
- Moreiras O., Carbajal A., Cabrera L., Cuadrado C. 2013. Tablas de composición de alimentos. (Pan Blanco de Trigo). Recomendaciones: Ingestas. Ed. Pirámide. España. pp. 40-41.
- Moughan P., Rutherford S. 2008. Available lysine in foods: a brief historical overview. *J AOAC Int.* 91(4): 901–906.
- Newman R., Newman W. 2008. Barley: taxonomy, morphology, and anatomy. En: *barley for food and health and barley: genetics and nutrient composition. Science, technology and Products.* Ed. John Wiley & Sons, Inc. USA. pp: 18-31, 56-95.
- Nicklas T., Neil C., Liska D., Almeida N., Fulgoni V. 2011. Modeling dietary fiber intakes in us adults: implications for public policy. *Food and Nut Sci.* 9(2): 925-93.
- NMX-F-007-1982. Alimento para humanos. Harina de trigo. Foods for humans. Wheat flour. Dirección: <https://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-007-1982.PDF>. Acceso: 09/09/2018.
- NMX-F-406-1982. Alimentos para humanos. Pan blanco bolillo y telera. Foods for humans. White bread round loafs. Dirección: <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-406-1982.PDF>. Acceso: 09/09/2018.
- NMX-F-442-1983. Alimentos. Pan productos de bollería. Food. Bread-bakery products. Normas mexicanas. Dirección general de normas. Dirección:

- <https://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-442-1983.PDF>.
Acceso: 01/08/19.
- NMX-F-516-1992. Alimentos. Productos de panificación. Clasificación y definiciones. Foods. Bakery products. Definitions and classification. Normas mexicanas. Dirección general de normas. Dirección: <https://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-521-1992.PDF#page=2&zoom=auto,-22,492>. Acceso: 01/08/19.
- NMX-FF-043-SCFI-2003. Productos alimenticios no industrializados para consumo humano cereal cebada maltera (*Hordeum vulgare L.* y *Hordeum distichum L.*). Especificaciones y métodos de prueba. Dirección: http://impulsoraagricola.com.mx/nueva/wp-content/uploads/2016/02/norma_calidad_sagarpa.pdf. Acceso: 09/09/2018.
- NOM-159-SSA1-1996. Bienes y servicios. Huevo, sus productos y derivados. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Dirección: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/159ssa16.html>. Acceso: 09/09/2018.
- Nwanekezi E. 2013. Composite flours for baked products and possible challenges – A review. *Nigerian Food J.* 31(2): 8–17.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS). 2018. Alimentación sana. Dirección: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/healthy-diet>. Actualización: 31/08/18. Acceso: 21/09/19.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). 2015. Epidemia de obesidad y sobrepeso vinculada al aumento del suministro de energía alimentaria. Dirección: <http://www.who.int/bulletin/releases/NFM0715/es/>. Actualización: 01/07/17. Acceso: 09/08/17.
- Ortíz A., Vázquez V., Montes M. 2005. La alimentación en México: enfoques y visión a futuro. *Estudios Sociales.* 13 (25): 7-34.
- Oscarsson M., Andersson R., Salomonsson A., Åman P. 1996. Chemical composition of barley samples focusing on dietary fiber components. *J Cereal Sci.* 24:161-170.

- Pejcz E., Czaja A., Wojciechowicz-Budzisz A., Gil Z., Szychaj R. 2017. The potential of naked barley sourdough to improve the quality and dietary fiber content of barley enriched wheat bread. *J Cereal Sci.* 77: 97-101.
- Pizarro S., Ronco A., Gotteland M. 2014. β -glucanos: ¿qué tipos existen y cuáles son sus beneficios en la salud?. *Rev Chil Nutr.* 41(3): 439-446.
- Procuraduría Federal del Consumidor (PROFECO). 2013. Sodio en bolillo y pan de caja. Te echan la sal ¡y tú ni en cuenta!. *Rev Consumidor.* 40 (1):31-43.
- Prückler M., Siebenhandl-Ehn, S., Apprich, S., Höltinger, S., Haas, C, Schmid, E., Kneifel, W. 2014. Wheat bran-based biorefinery 1: Composition of wheat bran and strategies of functionalization. *Food Sci and Technol.* 56(2): 211-221.
- Quaglia G. 1991. Ciencia y tecnología de la panificación. Ed Acribia. Zaragoza. España. pp. 12-14.
- Quiroga C. 2009. Los almidones resistentes y la salud. *Inv. & Des.* 8(1):130 – 141.
- Rathnayake H., Navaratne S., Navaratne C. 2018. Porous crumb structure of leavened baked products. *Int J Food Sci.* (2):1-15.
- Regand A., Chowdhury Z., Tosh S., Wolever T., Wood P. 2011. The molecular weight, solubility and viscosity of oat β -glucan affect human glycemic response by modifying starch digestibility. *Food Chem.* 129: 297-304.
- Rogers D., Zeleznak K., Lai C., Hosene R. 1988. Effect of native lipids, shortening, and bread moisture on bread firming. *Cereal Chem.* 65(3): 498-501.
- Román A., Ruiz Y., Ramírez V. 2006. Influencia del contenido de β -glucanos en la calidad de maltas cerveceras elaboradas con variedades de cebada (*Hordeum sativum* Jess) producidas en los estados de Hidalgo y Tlaxcala. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca. Hidalgo. pp. 5-12.
- Rondanelli R., Opizzi A., Monteferrario F., Klersy C., Cazzola R., Cestaro B. 2011. β -glucan- or rice bran-enriched foods: a comparative crossover clinical trial on lipidic pattern in mildly hypercholesterolemic men. *Eur J Clin Nutr.* 65(7):864-71.
- Rosenfelder P., Eklund M., Mosenthin R. 2013. Nutritive value of wheat and wheat by-products in pig nutrition: A review. *Animal Feed. Food Sci and Technol.* 185(3): 107-125.

- Rouill'e J., Della G., Devaux M., Marion D., Dubreil L. 2005. French bread loaf volume variations and digital image analysis of crumb grain changes induced by the minor components of wheat flour. *Cereal Chem.* 82(1): 20–27.
- Ruiz E., Mejía O., Herrera A., Cortés J. 2011. Avena (*Avena sativa*) y prevención primaria de la dislipidemia en adultos. *Aten Fam.* 18(2): 35-37.
- SAGARPA. 2017. Producción de cebada en México. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Dirección: <http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/bajacaliforniasur/boletines/2017/mayo/Documents/2017BS173.pdf>. Acceso: 10/08/17.
- Salgado-Albarrán M., Herrera-Díaz J., Dinkova T. 2015. Caracterización de patrones de hordeínas en variedades mexicanas de cebada maltera. *Rev Especializada Cien Quí-Biolog.* 18 (1): 43-51.
- Sánchez M. 2003. Procesos de elaboración de alimentos y bebidas. Ed. Mundi Prensa. Madrid. España. pp. 12-13.
- Sánchez R., Martín M., Palma S., López B., Bermejo L., Gómez C. 2015. Indicaciones de diferentes tipos de fibra en distintas patologías. *Nutr Hosp.* 31(6): 2372-2383.
- Sayar R. 2006. Ficha técnicas nutrientes y composición química. Centro de información nutricional. Disponible en: www.sanutricion.org.ar/files/upload/files/nutrientes_huevo.pdf. Acceso: 28/09/2018.
- Schutz H., Cardello A. 2001. A labeled affective magnitude (LAM) scale for assessing food liking/disliking. *J Sen Studies.* 16 (2): 117-159.
- Secretaría de Salud. 2016. ¿Cuánta fibra dietética se debe consumir?. Gobierno de México. Dirección: <https://www.gob.mx/salud/articulos/cuanta-fibra-dietetica-se-debe-consumir>. Actualización: 09/07/16. Acceso: 20/09/19.
- Serna S. 2013. Química, almacenamiento e industrialización de los cereales. (2da ed) AGT Editor. México. pp. 3-23; 47-73; 79-89.
- Simga-Aldrich. Total dietary fiber assay kit. Código DF-100A y TDF-C10. Boletín técnico: 1-4.

- Sozer N., Dogan H., Kokini J. 2011. Textural properties and their correlation to cell structure in porous food materials. *J Agr Food Chem.* 59 (5):1498–1507.
- Stauffer C. 2002. Fundamentos de la formación de masas. En: *Fabricación del pan.* Ed Acribia, España. pp. 316-319, 327-332.
- Stepniewska S., Hassoon W., Szafranska A., Cacak-Pietrzak G., Dziki D. 2019. Procedures for breadmaking quality assessment of rye wholemeal flour. *J Foods.* 8: 331-342.
- Stevenson L., Phillips F, O'sullivan K, Walton J. 2012. Wheat bran: its composition and benefits to health, a European perspective. *J Inter Food Sci and Nut.* 63(8): 1001-1013.
- Stone H., Sidel J. 2004. Sensory evaluation practices. Ed. Elsevier Academic Press. pp. 377.
- Suárez, M. 2013. Cerveza: componentes y propiedades. Tesis de maestría. Oviedo. España. pp. 6-9.
- Švec I., Hrušková M. 2005. Image data of crumb structure of bread from flour of czech spring wheat cultivars. *Czech J Food Sci.* 22(4): 133–142.
- Thongoun P., Pavadhgul P., Bumrungpert A., Satitvipawee P., Harjani Y., Kurilich A. 2013. Effect of oat consumption on lipid profiles in hypercholesterolemic adults. *J Med Assoc Thai.* 96(5): S25-32.
- Toaquiza A., 2011. Evaluación del efecto de enzimas (gluco-oxidasas, hemicelulasas) y emulsificante (esteoril lactilato de sodio) en la calidad de pan elaborado con sustitución parcial de harina de trigo nacional (*Triticum vulgare*) variedad Cojitambo. Tesis de licenciatura. Ambato. Ecuador. pp. 61-66.
- Torres F., 2007. Cambios en el patrón alimentario de la ciudad de México. *Pro Des Rev Latino Eco.* 38(151): 127-150.
- Tosh S. 2013. Review of human studies investigating the post-prandial blood-glucose lowering ability of oat and barley food products. *Eur J Clin Nutr.* 67(1): 310–317.
- Trogha I., Courtin C., Andersson A., Aman P., Sorensen J., Delcour J. 2004. The combined use of hull-less barley flour and xylanase as a strategy for wheat/hull-less barley flour breads with increased arabinoxylan and (1-3,1-4)-b-D glucan levels. *J Cereal Sci.* 40:257–267.

- U.S. Department of Health and Human Services and U.S. Department of Agriculture. 2015. Dietary Guidelines for Americans Directrices alimentarias para los Americanos 2015-2020. Dirección: <https://health.gov/dietaryguidelines/2015/guidelines/>. Actualización 01/12/2015. Acceso: 21/09/19.
- UNAM. 2013. Cebada (*Hordeum vulgare y distichum* L.). Universidad Nacional Autónoma de México. Disponible en: http://olimpia.cuautitlan2.unam.mx/semillas/index.php?option=com_content&view=article&id=19&Itemid=23. Actualización: 14/02/13. Acceso: 03/08/18.
- Valdés S. 2006. Hidratos de carbono. En: *Química de los alimentos*. (4ta) Ed. Pearson Educación. México. pp. 59, 77, 86, 107.
- Vásquez G., Matos C. 2009. Evaluación de algunas características fisicoquímicas de harina de trigo peruano en función a su calidad panadera. *Rev Inv Uni*. 3(1): 18-24.
- Villanueva R. 2014. El gluten del trigo y su rol en la industria de la panificación. *Ing Ind*. 32: 231-246.
- Villegas-Ruiz X., Ruíz-Espinosa H., Bárcenas-Pozos M. 2010. Tecnologías de enmascaramiento de sabor amargo en alimentos. *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos*. 4(1): 27-36.
- Volman J., Mensink R., Ramakers J., Winther M., Carlsen H., Blomhoff R., Buurman W., Plat J. 2010. Dietary (1→3), (1→4)- β -d-glucans from oat activate nuclear factor- κ B in intestinal leukocytes and enterocytes from mice. *Nutr Res*. 30(1): 40-8.
- Von-Atzingen M., Machado P., Silva M. 2005. Evaluation of texture and color of starches and flours in preparations without gluten. *Cienc Teconol Alim*. 4(5): 319-323.
- Wieser H. 2007. Chemistry of gluten proteins. *Food Micro*. 24(2):115–119.
- Wiggins C. 2002. Fermentación, horneado y enfriamiento. *Fabricación del pan*. Ed Acribia, España. pp. 143-150, 152-160, 163-164.
- Wood P. 2007. Cereal β -glucans in diet and health. *J Cereal Sci*. 46(3):230-238.

- Zamora M., Pérez J., Ramón H., López M., Gómez R., Rojas I. 2017. Maravilla: variedad de cebada forrajera para Valles Altos de México. *Rev Mex Cien Agric.* 8 (6):1449-1454.
- Zhang J., Li L., Song P., Wang C., Man Q., Meng L., Cai J., Kurilich A. 2012. Randomized controlled trial of oatmeal consumption versus noodle consumption on blood lipids of urban Chinese adults with hypercholesterolemia. *Nutr. J.* 11: 45-54.
- Zuleta Á., Binaghi M., Beatriz C., Aguirre C., De la Casa L., Tadini C., Ronayne A. 2012. Diseño de panes funcionales a base de harinas no tradicionales. *Rev Chil Nutr.* 39(3): 58-64.

ANEXOS

Anexo 1. Formato de evaluación sensorial.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
 Instituto De Ciencias De La Salud
 ÁREA ACADÉMICA DE NUTRICIÓN

SEXO: _____ EDAD: _____ CARERRA: _____

Instrucciones: A continuación se te entregara 5 muestras diferentes de pan, coloca una X en el recuadro según tu nivel agrado para cada muestra.

Nivel de agrado	Olor	Color corteza	Color miga	Sabor	Textura	Aceptación general
Muestra 624						
Me gusta mucho						
Me gusta						
Ni me gusta ni me disgusta						
No me gusta						
Me disgusta mucho						
Muestra 953						
Me gusta mucho						
Me gusta						
Ni me gusta ni me disgusta						
No me gusta						
Me disgusta mucho						
Muestra 178						
Me gusta mucho						
Me gusta						
Ni me gusta ni me disgusta						
No me gusta						
Me disgusta mucho						
Muestra 213						
Me gusta mucho						
Me gusta						
Ni me gusta ni me disgusta						
No me gusta						
Me disgusta mucho						

Muestra 098						
Me gusta mucho						
Me gusta						
Ni me gusta ni me disgusta						
No me gusta						
Me disgusta mucho						

¿Cuál te gusto más?:

624

953

178

213

098

Comentarios: _____

¡Gracias por tu participación!

Anexo 2. Ficha técnica de fibra dietética total



 SIGMA-ALDRICH™
 Product Information
 TOTAL DIETARY FIBER ASSAY KIT
 Product Codes TDF-100A and TDF-C10
 3665 Science Street, Saint Louis, MO 63103 USA
 Tel: 800 321 9656, 0114 371 5363 Fax: 800 321 9522, 0140 771 5207
 Email: techsupport@sigmaaldrich.com, sigmaaldrich.com

TECHNICAL BULLETIN

Introduction
 Dietary fiber is a mixture of complex organic substances and was initially defined as remnants of plant cells resistant to hydrolysis by the alimentary enzymes of man. This definition was modified to include cellulose, hemicellulose, lignin, pectins,^{2,3} gums, nondigestible oligosaccharides and other fibers. This broader definition acknowledges the significance of fiber as a chemical and physiological component of the diet. This procedure for the determination of total dietary fiber is based on the method published in the 16th Edition of the Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists (AOAC).⁴

Summary of Procedure
 This assay determines the total dietary fiber content of food using a combination of enzymatic and gravimetric methods. Samples of dried, fat-free foods are gelatinized with heat stable α -amylase and then enzymatically digested with protease and amyloglucosidase to remove the protein and starch present in the sample. Ethanol is added to precipitate the dietary fiber. The residue is then filtered and washed with ethanol and acetone. The residue is dried, weighed, and ashed. All samples are analyzed for protein and the others are ashed. Total dietary fiber is the weight of the residue less the weight of the protein and ash.

Reagents Provided:
 TDF-100A Kit – Total Dietary Fiber Assay Kit. This kit contains enough reagents to perform 100 assays.
 1. α -Amylase, Heat Stable, Product Code A3306
 2. Protease, Product Code P3910
 3. Amyloglucosidase, Product Code A9913
 4. Cellite™, Acid Washed, Product Code C8656
 TDF-C10 Kit – Total Dietary Fiber Assay Control Kit. Each bottle contains enough material for approximately 10 assays
 1. Arabinoxylan, Product Code A9788
 2. Cellulose, Product Code C7900
 3. β -Glucan, Product Code G7381
 4. Pectin, Product Code P7636
 5. Starch, Corn, Product Code S2388
 6. Starch, Wheat, Product Code S1514

Reagents Required but Not Provided:
 1. Petroleum ether, Product Code 18,451-9
 2. Ethyl Alcohol, ACS reagent, Product Code 45,984-4
 3. Acetone, ACS reagent, Product Code 32,011-0
 4. Sodium Phosphate, Dibasic, anhydrous, Product Code S0876
 5. Sodium Phosphate, Monobasic, anhydrous, Product Code S0751
 6. Sodium Hydroxide, 1.0 N, Product Code 930-65
 7. Hydrochloric Acid, 1.0 M HCl, Product Code 920-1

Apparatus
 1. Fritted crucible-porosity #2 (coarse 40-60 microns) equipped with a vacuum pump or aspirator be used to prevent contamination in case of water backup.
 2. Vacuum source. A vacuum pump or aspirator vacuum oven set at 105 °C or a vacuum oven set at 70 °C.
 4. Desiccator
 5. Muffle furnace
 6. Boiling water bath
 7. Constant temperature water bath adjustable to 60 °C with either a multistation shaker or multistation magnetic stirrer to provide agitation of the digestion flasks during enzymatic hydrolysis.
 8. Beakers - 400 ml or 600 ml tall form
 9. Analytical balance capable of weighing to 0.1 mg.
 10. pH meter - standardized at pH 4.0 and pH 7.0.

Preparation Instructions
Crucibles
 Wash crucibles thoroughly. Heat one hour at 525 °C and cool. Soak and rinse crucibles in water and then air dry. Add 0.5 grams of Cellite to each crucible and dry at 130 °C to constant weight (one hour or more). Cool in desiccator and weigh to nearest 0.1 mg. Record this as "Cellite + Crucible Weight" or W₁. Store in desiccator until needed.

Sample
 If the fat content of the sample is greater than 10%, defat with petroleum ether.
 Record the loss of weight due to fat removal and make the appropriate correction to the final % dietary fiber. When dealing with unknowns, fat-extract all samples.
 Homogenize each sample, if necessary, and dry overnight in an air oven at 105 °C (70 °C in vacuum oven). Cool in desiccator and dry mill sample to 0.3-0.5 mm mesh. If apparatus is unavailable for milling, grinding in a mortar will be sufficient. If sample cannot be heated, freeze dry before milling. Store dry sample in a desiccator until analysis is carried out.

Reagents
 Use distilled or deionized water to prepare solutions.
 1. 78% Ethanol
 Place 207 ml of water into a one liter volumetric flask. Dilute to volume with 95% ethanol. Mix and bring to volume again with 95% ethanol if necessary. Mix.
 2. Phosphate Buffer, 0.08 M, pH 6.0
 Dissolve 1.4 g of Na₂HPO₄ (Product Code S 0876) and 8.4 g of NaH₂PO₄, anhydrous (Product Code S 0751) in approximately 700 ml of water. Dilute to one liter with water. Check pH and adjust if necessary with either NaOH or H₃PO₄. Store in tightly capped container at room temperature.
 3. Sodium Hydroxide Solution, 0.275 N
 Dilute 275 ml of 1.0 N NaOH solution (Product Code 930-65) to one liter with water in a volumetric flask. Store in a tightly capped container at room temperature.
 4. Hydrochloric Acid Solution, 0.325 M
 Dilute 325 ml of 1.0 M HCl solution (Product Code 920-1) to one liter with water in a volumetric flask. Store in a tightly capped container at room temperature.

TOTAL DIETARY FIBER ASSAY
 Heat Stable, α -Amylase, incubation at pH 6.0, 15 min, 95 °C
 Protease incubation at pH 7.5, 30 min, 60 °C
 Amyloglucosidase incubation at pH 4.5, 30 min, 60 °C
 Ethanol Precipitation
 Alcohol and Acetone Washes
 Kjeldahl Protein Determination, 5 hour, 525 °C
 Drying
 Calculation of Total Dietary Fiber

Enzyme Effectiveness Testing
The enzymes included in the TDF-100A Kit have been evaluated using the test samples listed in the table below. Full enzymatic activity and the absence of undesirable contaminating activities is indicated by obtaining the expected recovery of dietary fiber for each test sample. It is advisable to include Casein (Product Code C7906) and/or Corn Starch (Product Code

S2388) in each determination as internal controls. About every six months after the kit enzymes have been opened, each of the test samples listed below should be run through the entire assay for total dietary fiber to ensure that no degradation or contamination of the enzymes has occurred.

Test Sample	Sigma Product Code	Activity	Sample Weight	Expected Recovery % Dietary Fiber
Arabinogalactan	A9788	Hemicellulase*	0.1 gram	95-100
Casein	C7906	Protease**	0.3 gram	0-2
β -Glucan	G7391	β -Glucanase*	0.1 gram	95-100
Pectin	P7536	Pectinase*	0.1 gram	95-100
Starch, Corn	S2388	Amylase** Amyloglicosidase**	1.0 gram	0-2
Starch, Wheat	S1514	Amylase** Amyloglicosidase**	1.0 gram	0-1

* This activity should not be present in the tests
** This activity should be fully functional in the tests.

Calculations

Residue Weight = $W_2 - W_1$ Ash Weight = $W_3 - W_1$

B = R BLANK - PALANK - A BLANK

% TDF = $\frac{R_{SAMPLE} - P_{SAMPLE} - A_{SAMPLE} - B}{(SW) \times 100}$

Where: TDF = Total Dietary Fiber

R = Average Residue Weight (mg)

P = Average Protein Weight (mg)

A = Average Ash Weight (mg)

SW = Average Sample Weight (mg)

CELITE is a trademark of World Minerals, Inc for its diatomaceous silica product

CMH/MAM 4/02

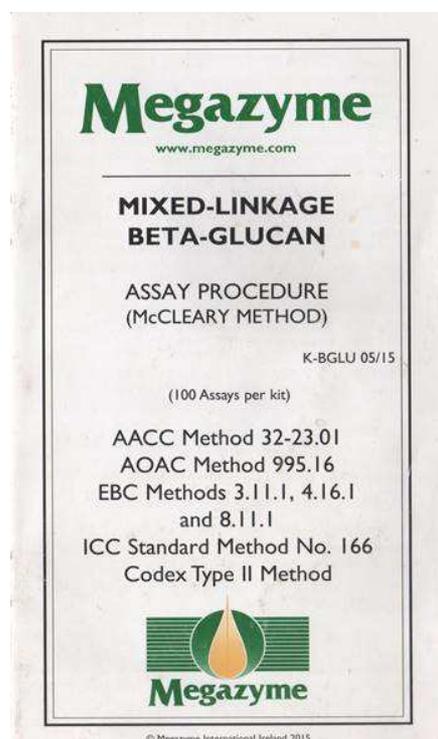
Sigma brand products are sold through Sigma-Aldrich, Inc. Sigma-Aldrich, Inc. warrants that its products conform to the specifications listed in this and other Sigma-Aldrich publications. Purchaser must determine the suitability of the product(s) for their particular use. Additional terms and conditions may apply. Please see reverse side of the invoice or packing slip.

Determination

Run blanks along with samples through the entire procedure to measure any contributions to residue from reagents. Samples and blanks to be tested for dietary fiber content should be run at least in quadruplicate so that duplicate protein and ash values are available for improved accuracy.

1. Weigh out four 1-gram samples of each material to be tested into tall form beakers. Sample weights should not differ by more than 20 mg. Record weights to 0.1 mg.
2. Add 50 ml of pH 6.0 phosphate buffer to each beaker.
3. Add 0.10 ml α -Amylase (Product Code A3306) to each beaker and mix well.
4. Cover each beaker with aluminum foil and place in a boiling water bath. Agitate beakers gently at 5 minute intervals. Incubate for 15 minutes after the internal temperature of the beakers reaches 95 °C.
5. Allow solutions to cool to room temperature.
6. Adjust the pH of the solutions to 7.5 ± 0.2 by adding 10 ml of 0.275 N NaOH to each beaker. Check pH, adjust if necessary with either NaOH or HCl.
7. Immediately before use, make a 50 mg/ml solution of Protease (Product Code P3910) in phosphate buffer. Pipette 0.1 ml (5 mg Protease) into each beaker.
8. Cover each beaker with aluminum foil and place in 60 °C water bath. With continuous agitation, temperature of the beakers reaches 60 °C.
9. Allow solutions to cool to room temperature.
10. Adjust the pH of the solutions to between pH 4.0 and 4.5 by adding 10 ml of 0.325 M HCl to each beaker. Check pH, adjust if necessary with either NaOH or HCl.
11. Add 0.1 ml α -Amyloglicosidase (Product Code A9913) to each beaker.
12. Cover each beaker with aluminum foil and place in 60 °C water bath. With continuous agitation, incubate for 30 minutes after the internal temperature of the beakers reaches 60 °C.
13. Add 4 volumes of 95% ethanol to each beaker.
14. Let solutions set overnight at room temperature to allow complete precipitation.
15. Filtration
Wet and redistribute the bed of Celite in each crucible using 75% ethanol. Apply gentle suction to draw Celite onto frit as an even mat. Maintain gentle suction and quantitatively transfer the precipitate and suspension from each beaker to its respective crucible.
Wash the residue with three 20 ml portions of 78% ethanol, two 10 ml portions of 95% ethanol, and two 10 ml portions of acetone.
A gum may form with some samples, trapping liquid. Breaking the surface film with a spatula will improve the rate of filtration. Be sure to rinse any material adhering to the spatula into the crucible. The time for filtration and washing will vary from 0.1 to 6 hours per crucible, averaging about 0.5 hour per crucible.
Dry crucibles containing residues overnight in a 105 °C air oven or 70 °C vacuum oven.
17. Cool all crucibles in a desiccator, weigh to nearest 0.1 mg, and record this weight as "Residue + Celite + Crucible Weight" or W₂.
18. Analyze the residues from two samples and two blanks for protein by Kjeldahl nitrogen analysis as specified in the AOAC procedure.³ Use 6.25 as the factor to convert ammonia determined in the analysis to protein except where nitrogen content in the protein sample is known.
19. Ash the residue in the crucibles from two samples and two blanks for 5 hours at 525 °C. Cool in desiccator, weigh to nearest 0.1 mg and record this weight as "Ash + Celite + Crucible Weight" or W₃.

Anexo 3. Ficha técnica de β -glucanos



INTRODUCTION:

For some time the brewing, food and ingredient industries have identified the need to develop an accurate, convenient and reliable method for assaying mixed-linkage β -glucan in barley, malt, wort and beer. The Megazyme method meets all of these requirements. It is simple to use and fifty to one hundred (50-100) samples can be assayed in a day. The method has also been adapted for the measurement of β -glucan in oats and oat fibre products (Streamlined method, page 5).

PRINCIPLE:

Samples are suspended and hydrated in a buffer solution of pH 6.5 and then incubated with purified lichenase enzyme and filtered. An aliquot of the filtrate is then hydrolysed to completion with purified β -glucosidase. The D-glucose produced is assayed using a glucose oxidase/peroxidase reagent (Scheme 1, page 16).

ACCURACY:

Standard errors of $\pm 3\%$ are achieved routinely within our laboratory for oat and barley samples.

EVALUATION:

The Streamlined β -glucan method has been successfully evaluated by AOAC International (Method 995.16), AACC (Method 32-23.01) and ICC (Method No. 166). The original version of the method was also successfully evaluated by Analytical Committees of the Royal Australian Chemical Institute and the European Brewing Convention.

SPECIFICITY:

The assay is specific for mixed-linkage [(1-3)(1-4)]- β -D-glucan.

KITS:

Kits suitable for performing 100 assays are available from Megazyme. The kits contain the full assay method plus:

- Bottle 1:** Lichenase [specific, *endo*-(1-3)(1-4)- β -D-glucan 4-glucanohydrolase] suspension (1 mL). Stable for > 3 years at 4°C.
- Bottle 2:** β -Glucosidase (1 mL) suspension. Stable for > 3 years at 4°C.
- Bottle 3:** **GOPOD Reagent Buffer.** Buffer (50 mL, pH 7.4), *p*-hydroxybenzoic acid and sodium azide (0.095% w/v). Stable for > 4 years at 4°C.

- Bottle 4:** **GOPOD Reagent Enzymes.** Glucose oxidase plus peroxidase and 4-aminoantipyrine. Freeze-dried powder. Stable for > 5 years at -20°C.
- Bottle 5:** D-Glucose standard solution (5 mL, 1.0 mg/mL) in 0.2% (w/v) benzoic acid. Stable for > 5 years at room temperature.
- Bottle 6:** Standardised barley flour control. β -Glucan content shown on vial label. Stable for > 5 years at room temperature.
- Bottle 7:** Standardised oat flour control. β -Glucan content shown on vial label. Stable for > 5 years at room temperature.

PREPARATION OF REAGENT SOLUTIONS/SUSPENSIONS:

- Dilute the contents of bottle 1 (lichenase) to 20.0 mL with 20 mM sodium phosphate buffer (pH 6.5). Divide into appropriately sized aliquots and store in polypropylene tubes at -20°C between use and keep cool during use if possible. Stable for > 2 years at -20°C.

NOTE: It is imperative that the lichenase is not cross-contaminated with β -glucosidase.

- Dilute the entire contents of bottle 2 (β -glucosidase) to 20.0 mL with 50 mM sodium acetate buffer (pH 4.0). Divide into appropriately sized aliquots and store in polypropylene tubes at -20°C between use and keep cool during use if possible. Stable for > 2 years at -20°C.
- Dilute the contents of bottle 3 (GOPOD Reagent Buffer) to 1 L with distilled water (this is solution 3). Use immediately.

NOTE:

- On storage, salt crystals may form in the concentrated buffer. These must be completely dissolved when this buffer is diluted to 1 L with distilled water.
- This buffer contains 0.095% (w/v) sodium azide. This is a poisonous chemical and should be treated accordingly.
- Dissolve the contents of bottle 4 in 20 mL of solution 3 and quantitatively transfer this to the bottle containing the remainder of solution 3. Cover this bottle with aluminium

foil to protect the enclosed reagent from light. This is Glucose Determination Reagent (**GOPOD Reagent**). Stable for ~ 3 months at 2-5°C or > 12 months at -20°C.

If this reagent is to be stored in the frozen state, preferably it should be divided into aliquots. Do not freeze/thaw more than once.

When the reagent is freshly prepared it may be light yellow or light pink in colour. It will develop a stronger pink colour over 2-3 months at 4°C. The absorbance of this solution should be less than 0.05 when read against distilled water.

BUFFERS (NOT SUPPLIED):

1. Sodium phosphate buffer (20 mM, pH 6.5)
Dissolve 3.12 g of sodium dihydrogen orthophosphate dihydrate ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) in 900 mL of distilled water and adjust the pH to 6.5 by the addition of 100 mM sodium hydroxide (4 g/L) (approx. 50 mL is required). Adjust the volume to 1 L. Add 0.2 g of sodium azide.
Stable for 2 months at 4°C.
2. Sodium acetate buffer (50 mM, pH 4.0)
Add 2.9 mL of glacial acetic acid to 900 mL of distilled water. Adjust to pH 4.0 by the addition of 1 M sodium hydroxide solution. Adjust the volume to 1 L. Add 0.2 g sodium azide.
Stable for 2 months at 4°C.
3. Sodium acetate buffer (200 mM, pH 4.0)
Add 11.6 mL of glacial acetic acid to 900 mL of distilled water. Adjust to pH 4.0 by the addition of 1 M sodium hydroxide solution. Adjust the volume to 1 L. Add 0.2 g sodium azide.
Stable for 2 months at 4°C.

EQUIPMENT (RECOMMENDED):

1. Polypropylene tubes/containers with caps (35 mL capacity).
2. Glass test-tubes (12 mL capacity).
3. Micro-pipettors, e.g. Gilson Pipetman® (100 µL and 200 µL).
4. Positive displacement pipettor, e.g. Eppendorf Multipette® - with 5.0 mL Combitip® (to dispense 0.1 mL aliquots of buffer and buffered β -glucosidase solution).

3

5. Adjustable-volume dispensers 0-5.0 mL (for phosphate buffer).
3.0 mL (for glucose oxidase/peroxidase reagent).
0-25.0 mL (for distilled water).
6. Laboratory oven.
7. Analytical and top-pan balances.
8. Spectrophotometer set at 510 nm (see point 1 under Useful Hints, page 10).
9. Vortex mixer.
10. Thermostated water bath set at 50°C (or 40°C for the original version of the method, page 10).
11. Stop watch.
12. Whatman No. 41 filter circles.
13. Centrifuge (in conjunction with preparation of malt, wort and beer).
14. Laboratory mill with 0.5 mm screen (e.g. Frisch pulverisette 14®).
15. Boiling water bath.

CONTROLS AND PRECAUTIONS:

1. With each set of determinations, reagent blanks and D-glucose standards of 50 µg and/or 100 µg are included, in duplicate.
The reagent blank comprises 0.1 mL distilled water + 0.1 mL sodium acetate buffer + 3.0 mL of **GOPOD Reagent**.
The glucose standard comprises 0.1 mL sodium acetate buffer + 0.1 mL D-glucose standard (50 µg/0.1 mL or 100 µg/0.1 mL) + 3.0 mL **GOPOD Reagent**. ^{50 mM}
2. With each set of determinations at least one standard barley flour is also included.
3. With each new batch of **GOPOD Reagent** the time for maximum colour formation with 100 µg of D-glucose standard should be checked. This is usually approx. 15 min.
4. It is imperative that the lichenase enzyme preparation is **not** cross-contaminated with the β -glucosidase preparation (the reverse is not a problem).

4

(A) ASSAY PROCEDURE FOR OAT AND BARLEY FLOUR AND FIBRE SAMPLES - STREAMLINED METHOD (AOAC Method 995.16, AACC Method 32-23 and ICC Standard Method No. 168).

This procedure is ideal for all dry samples particularly those containing high levels of β -glucan (e.g. processed oat bran products).

METHOD:

1. Mill barley, oats or fibre sample (approx. 50 g) to pass a 0.5 mm screen using a Fritsch pulverisette 14® (Fritsch GmbH Idar-Oberstein, Germany) or alternative centrifugal mill.
2. Add flour sample (80-120 mg; weighed accurately) to a glass centrifuge tube (16 x 120 mm; 17 mL capacity). Tap the tube to ensure that all sample falls to the bottom of the tube.
3. Wet the sample with 0.2 mL of aqueous ethanol (50% v/v) to aid dispersion. Add sodium phosphate buffer (4.0 mL, 20 mM, pH 6.5) and stir the contents on a vortex mixer.
4. On mixing, immediately place the tube in a boiling water bath and incubate for 60 sec. Vigorously stir the mixture on a vortex mixer, incubate at 100°C for a further 2 min and stir again.
5. Incubate the tube plus contents at 50°C and allow to equilibrate for 5 min.
6. Add lichenase (0.2 mL, 10 U) and stir the tube contents. Seal the tube with parafilm and incubate for 1 h at 50°C, with regular vigorous stirring (i.e. 3-4 times) on a vortex mixer. Continuous stirring using a device such as the Megazyme Multi-stir Incubation Bath (cat. no. **D-IBMKIII**) is recommended.
7. Add sodium acetate buffer (5.0 mL, 200 mM, pH 4.0) and vigorously mix the tube contents on a vortex mixer.
8. Allow the tube to equilibrate to room temperature (5 min) and centrifuge (1,000 g, 10 min). Carefully and accurately dispense aliquots (0.1 mL) into the bottom of three test tubes (12 mL capacity) using a Gilson Pipetman® or a Rainin EDP-2® motorised dispenser.
9. Add β -glucosidase (0.1 mL, 0.2 U) in 50 mM sodium acetate buffer (pH 4.0) to two of these tubes (the reaction). To the third (the reaction blank), add 50 mM acetate buffer (0.1 mL, pH 4.0). Incubate all tubes at 50°C for 10 min.
10. Add **GOPOD Reagent** (3.0 mL) to each tube and incubate at 50°C for a further 20 min.

5

11. Remove the tubes from the water bath and measure the absorbance at 510 nm against reagent blank within 1 h.

NOTE: The amount of D-glucose present in the test tube (i.e. in the 0.1 mL of sample being analysed) should range between 4 and 100 µg. The sample solution before the β -glucosidase treatment must be diluted sufficiently with 200 mM sodium acetate buffer (pH 4.0) to yield a sugar concentration between 0.04 and 1.0 g/L, which is equivalent to approx. 0.35 and 8.5% of β -glucan in the original sample. For example if a sample contains 20% of beta-glucan it should be diluted 3-fold with 200 mM sodium acetate buffer (pH 4.0) before dispensing aliquots for incubation with β -glucosidase.

Alternatively for samples containing high β -glucan, e.g. Oatwell (> 50% β -Glucan), the sample size should be reduced to 50 mg and the volume should be adjusted to 100 mL with 200 mM sodium acetate buffer (pH 4.0) after lichenase treatment.

(B) ASSAY PROCEDURE FOR COOKED, TOASTED OR EXTRUDED CEREAL PRODUCTS - STREAMLINED METHOD (AOAC Method 995.16, AACC Method 32-23 and ICC Standard Method No. 168).

In the analysis of β -glucan in cooked, toasted or extruded cereal products, the sample should be pre-extracted with aqueous ethanol to remove free sugars and to reduce the levels of fats and oils.

METHOD:

1. Mill food product (approx. 50 g) to pass a 0.5 mm screen using a Fritsch pulverisette 14® (Fritsch GmbH Idar-Oberstein, Germany) or alternative centrifugal mill.
2. Add sample (~ 200 mg; weighed accurately) to a glass centrifuge tube (16 x 120 mm; 17 mL capacity). Tap the tube to ensure that all sample falls to the bottom of the tube.
3. Add 5.0 mL of aqueous ethanol (50% v/v) and incubate the tubes in a boiling water bath for 5 min. Mix the contents on a vortex stirrer and add a further 5.0 mL of 50% (v/v) aqueous ethanol. Mix.
4. Centrifuge the tubes for 10 min at 1,800 g (approx. 3,000 rpm). Discard the supernatant.
5. Resuspend the pellet in 5.0 mL of 50% (v/v) aqueous ethanol and stir on the vortex mixer. Add a further 5.0 mL of 50% aqueous ethanol. Stir on the vortex mixer, centrifuge and discard the supernatant (as in step 4).

6

6. Suspend the pellet in 4.0 mL of sodium phosphate buffer (20 mM, pH 6.5) and incubate the tube at 50°C for 5 min.
7. Add lichenase (0.2 mL, 10 U) and stir the tube contents. Seal the tube with parafilm and incubate for 1 h at 50°C, with regular vigorous stirring (i.e. 3-4 times) on a vortex mixer. Continuous stirring using a device such as the Megazyme Multi-stir Incubation Bath (cat. no. **D-IBMKIII**) is recommended.
8. Add sodium acetate buffer (2.0 mL, 200 mM, pH 4.0) and vigorously mix the tube contents on a vortex mixer.
9. Proceed from **Step 8 of example (A)**.

(C) ASSAY PROCEDURE FOR MILKSHAKE, YOGURT AND OTHER LIQUID SAMPLES (ALCOHOL PRECIPITATION).

1. Weigh accurately a glass centrifuge tube (16 x 120 mm; 17 mL capacity).
2. Add 3 mL of sample to the tube and heat in a boiling water bath for 5 min. Allow to cool to room temperature.
3. Add 3 mL of 95% aqueous ethanol to the tube and mix the contents on a vortex stirrer. Add a further 5.0 mL of 95% aqueous ethanol. Mix well on a vortex stirrer.
4. Centrifuge the tubes for 10 min at 1,800 g (approx. 3,000 rpm). Discard the supernatant.
5. Resuspend the pellet in 8.0 mL of 50% (v/v) aqueous ethanol and stir on the vortex mixer. Centrifuge and discard the supernatant (as in step 4).
6. Suspend the pellet in sodium phosphate buffer (20 mM, pH 6.5) adjusting the volume to 4.0 mL (by weight), from the known weight of the empty tube. Incubate the tube at 50°C for 5 min.
7. Proceed from **Step 6 of example (A)**.

NOTE: If the absorbance values received for a sample exceed the absorbance values obtained for glucose standard the samples must be diluted with 200 mM sodium acetate buffer (pH 4.0) to bring them on scale before dispensing aliquots for incubation with β -glucosidase.

7

CALCULATIONS (Solid samples):

$$\begin{aligned} \beta\text{-glucan (\% w/w ("as is"))} &= \Delta A \times F \times \frac{FV}{0.1} \times \frac{1}{1000} \times \frac{100}{W} \times \left(\frac{162}{180}\right) \times D \\ &= \Delta A \times \frac{F}{W} \times FV \times D \times 0.9 \end{aligned}$$

where:

- ΔA = absorbance after β -glucosidase treatment (reaction) minus reaction blank absorbance.
- F = factor for the conversion of absorbance values to μg of glucose.
 $= \frac{100 (\mu\text{g of D-glucose})}{\text{absorbance of } 100 \mu\text{g of D-glucose}}$
- FV = final volume (i.e. equals 9.4 mL for oat and barley flour in example (A); 6.4 mL for cooked, toasted and extruded cereal products in example (B); 100 mL for samples containing > 50% β -glucan, see note on page 6).
- 0.1 = volume of sample analysed.
- $\frac{1}{1000}$ = conversion from μg to mg.
- $\frac{100}{W}$ = factor to express β -glucan content as a percentage of sample weight.
- W = the weight in mg ("as is" basis) of the sample analysed.
- $\frac{162}{180}$ = factor to convert from free D-glucose, as determined, to anhydro-D-glucose, as occurs in β -glucan.
- D = further dilution prior to incubation with β -glucosidase (if required).

β -glucan % w/w (dry wt. basis):

$$= \beta\text{-glucan \% w/w (as is)} \times \frac{100}{100 - \text{moisture content (\% w/w)}}$$

8

CALCULATIONS (Liquid samples; g/100 mL):

$$\begin{aligned} \beta\text{-glucan (g/100 mL)} &= \Delta A \times F \times \frac{9.2}{3.0} \times 1000 \times \frac{1}{1000} \times \frac{1}{1000} \times \\ &\quad \times \frac{162}{180} \times D \\ &= \Delta A \times F \times D \times 0.00276 \end{aligned}$$

where:

- ΔA = absorbance after β -glucosidase treatment (reaction) minus reaction blank absorbance.
- F = factor for the conversion of absorbance values to μg of glucose.
 $= \frac{100 (\mu\text{g of D-glucose})}{\text{absorbance of } 100 \mu\text{g of D-glucose}}$
- $\frac{9.2}{3.0}$ = volume correction factor: 3.0 mL aliquots of sample were treated with IMS and volume was readjusted to 9.2 mL (i.e. 4.0 mL + 0.2 mL lichenase + 5.0 mL acetate buffer).
- 1000 = volume adjustment factor (0.1 mL was analysed but results are presented per 100 mL of sample)
- $\frac{1}{1000}$ = conversion from μg to mg.
- $\frac{1}{1000}$ = conversion from mg to g.
- $\frac{162}{180}$ = factor to convert from free D-glucose, as determined, to anhydro-D-glucose, as occurs in β -glucan.
- D = further dilution prior to incubation with β -glucosidase (if required).

NOTE: These calculations can be simplified by using the Megazyme *Mega-Calc*TM, downloadable from where the product appears on the Megazyme website (www.megazyme.com).

9

(D) ASSAY PROCEDURE FOR BARLEY APPROVED BY EUROPEAN BREWING CONVENTION (EBC Method 3.11.1):

USEFUL HINTS:

1. After incubation of samples with lichenase it is suggested that the volume of the reaction mixture* be adjusted to 30.0 mL by the addition of 24.0 mL of distilled water via a dispenser.

* Assume the volume to be 6.0 mL; approx. 0.2 mL is lost during the heating step.

2. In step 5 of the assay procedure, if the solution becomes very viscous after the 5 min boiling step, add 5.0 mL of distilled water and stir well on a vortex mixer. After reaction with lichenase adjust the volume to 30.0 mL by the addition of 19.0 mL of distilled water.

NOTE: If the solution is very viscous there may be some problem with the diffusion of lichenase. Adding 5.0 mL of distilled water will alleviate this problem.

3. If glass, rather than polypropylene, tubes are used in step 5 of the assay procedure, reduce the time of incubation in the boiling water bath to 45 sec initially, vortex the contents and incubate for a further 45 sec in the boiling water bath (i.e. total of 1.5 min).

METHOD:

1. Mill barley to pass a 0.5 mm screen using a Tecator Cyclotec[®] mill (uniform, fine milling is essential).
2. Accurately weigh barley flour samples (approx. 0.5 g) of known moisture content* into polypropylene tubes (refer to Equipment, point 1, page 3).

* See footnote under Example Results Sheet on page 11.

3. Add an aliquot (1.0 mL) of aqueous ethanol (50% v/v) to each tube to aid in the subsequent dispersion of samples.
4. Add 5.0 mL of sodium phosphate buffer (20 mM, pH 6.5) and stir the tubes on a vortex mixer.
5. Incubate the tubes in a boiling water bath for approx. 2 min (see point 2 and 3 under Useful Hints). Remove the tubes and vigorously stir them on a vortex mixer. Heat the tubes for a further 3 min in the boiling water bath (mixing after 2 min prevents formation of a lump of gel material).

10

- Cool the tubes to 40°C and add 0.2 mL of lichenase (10 U) to each tube. Cap the tubes, stir and incubate at 40°C for 1 h.
- Adjust the volume in each tube to 30.0 mL by the addition of distilled water (see point 1 under Useful Hints, page 10).
- Thoroughly mix the contents of the tubes and filter an aliquot from each tube through a Whatman No. 41 filter circle (or centrifuge an aliquot at approx. 1,000 g for 10 min).
- Carefully and accurately transfer aliquots (0.1 mL) from each filtrate to the bottom of three test tubes.
- Add an aliquot (0.1 mL) of sodium acetate buffer (50 mM, pH 4.0) to one of these (the reaction blank), while to the other two (the reaction) add 0.1 mL of β-glucosidase (0.2 U) in 50 mM acetate buffer (pH 4.0). Incubate the tubes at 40°C for 15 min.
- Add GOPOD Reagent (3.0 mL) to each tube and incubate at 40°C for 20 min (see point 3 under Controls and Precautions, page 4).
- Measure the absorbance at 510 nm for each reaction (E_A) and reaction blank (E_B).

NOTE: With the **GOPOD Reagent** employed in this kit, the colour complex which is formed is stable for at least 2 h at room temperature.

EXAMPLE RESULTS SHEET:

Sample	Sample weight (mg)		Absorbances (510 nm)			β-Glucan % (w/w)
	Fresh	Dry (corrected)	E_B	E_A	ΔA	
e.g. Clipper	495	420	0.012	0.460 0.455	0.448 0.443	2.86 2.83

$$\text{Dry weight} = \text{fresh weight} \times \left(\frac{100 - \text{moisture content (\%)}}{100} \right)^*$$

* In general this is determined by NIR reflectance. Alternatively this can be determined by observing weight loss on storage of flour samples (0.5 g) at 80°C for 20 h. The moisture content of cereal flour samples is consistently in the range of 10-14%.

11

(E) ASSAY PROCEDURE FOR MALT, SPENT GRAIN, BEER AND WORT APPROVED BY EUROPEAN BREWING CONVENTION

Malt (EBC Method 4.16.1):

- To 1.0 g of malt flour (milled to pass a 0.5 mm screen) or lyophilised barley samples removed during the malting process, add 5.0 mL of aqueous ethanol (50% v/v).
- Incubate in a boiling water bath for 5 min. Mix the contents on a vortex stirrer and add a further 5.0 mL of 50% (v/v) aqueous ethanol. Mix.
- Centrifuge for 10 min at 1,000 g. Discard the supernatant.
- Resuspend the pellet in 10.0 mL of 50% (v/v) aqueous ethanol, centrifuge and discard the supernatant (as in step 3. above).
- Suspend the pellet in 5.0 mL of sodium phosphate buffer (20 mM, pH 6.5).
- Assay for β-glucan as per the Assay Procedure for barley from step 5.

Spent Grain:

Either wash spent grain with hot water (approx. 75°C), and then lyophilise, or lyophilise without washing. Mill this material to pass a 0.5 mm screen and analyse for β-glucan content and perform calculations by the same procedure as employed for the malt samples.

Beer or Wort (EBC Method 8.11.1):

- De-gas beer by heating an aliquot to approx. 80°C in a boiling water bath. Allow to cool.
- To 5.0 mL of wort or degassed beer in a pre-weighed centrifuge tube (12 mL capacity) add 2.5 g of finely milled ammonium sulphate crystals.
- Seal the tube with Parafilm® and dissolve the ammonium sulphate by careful inversion (to avoid frothing).
- Allow the tube to stand for approx. 20 h at 4°C.
- Centrifuge at 1,000 g for 10 min on a bench centrifuge.
- Discard the supernatant.
- Resuspend the pellet by thoroughly vortexing with 1.0 mL of 50% (v/v) aqueous ethanol. Add a further 10.0 mL of 50% (v/v) aqueous ethanol and mix well by inversion of the tube.

12

- Centrifuge at 1,000 g for 5 min. Discard the supernatant.
- Repeat the ethanol-washing procedure by resuspending the pellet etc. as in steps 7 and 8 above.
- Discard the supernatant.
- Resuspend the pellet in sodium phosphate buffer (20 mM, pH 6.5): for wort, adjust the volume to 4.8 mL (by weight), for beer, adjust the volume to 1.8 mL (by weight).
- Add 0.2 mL lichenase (10 U) and incubate at 40°C for 5 min. Centrifuge at 1,000 g for 10 min then proceed as per the assay procedure for barley starting from step 9.

NOTE: For wort samples containing low levels of β-glucan, incubate a larger aliquot of sample solution (up to 0.5 mL) with β-glucosidase. Use this larger aliquot size also for the blank. The D-glucose standard must also be adjusted accordingly with distilled water. Modify calculations accordingly.

CALCULATIONS:

For barley, malt and spent grain

$$\begin{aligned} \beta\text{-glucan (\% w/w)} &= \Delta A \times F \times 300 \times \frac{1}{1000} \times \frac{100}{W} \times \frac{162}{180} \\ &= \Delta A \times \frac{F}{W} \times 27 \end{aligned}$$

For wort

$$\begin{aligned} \beta\text{-glucan (mg/L)} &= \Delta A \times F \times 10,000 \times \frac{1}{1000} \times \frac{5}{5} \times \frac{162}{180} \\ &= \Delta A \times F \times 9 \end{aligned}$$

For beer

$$\begin{aligned} \beta\text{-glucan (mg/L)} &= \Delta A \times F \times 10,000 \times \frac{1}{1000} \times \frac{2}{5} \times \frac{162}{180} \\ &= \Delta A \times F \times 3.6 \end{aligned}$$

13

where:

ΔA = absorbance after β-glucosidase treatment (reaction) minus reaction blank absorbance.

F = factor for the conversion of absorbance values to μg of glucose.

$$= \frac{100 \text{ (}\mu\text{g of D-glucose)}}{\text{absorbance of } 100 \mu\text{g of D-glucose}}$$

300 = volume correction (i.e. 0.1 mL taken from 30.0 mL).

10,000 = volume adjustment factor (0.1 mL was analysed but results are presented per litre of sample).

$\frac{1}{1000}$ = conversion from μg to mg.

$\frac{100}{W}$ = factor to express β-glucan content as a percentage of dry flour weight.

W = the calculated dry weight of the sample analysed, in mg (refer to example results sheet on page 6).

$\frac{5}{5}$ = volume correction factor. For wort samples, 5.0 mL aliquots were treated with precipitant (ammonium sulphate) and the volume was readjusted to 5.0 mL (i.e. 4.8 mL + 0.2 mL lichenase).

$\frac{2}{5}$ = volume correction factor. For beer samples, 5.0 mL aliquots were treated with precipitant (ammonium sulphate) and the volume was readjusted to 2.0 mL (i.e. 1.8 mL + 0.2 mL lichenase).

$\frac{162}{180}$ = factor to convert from free D-glucose, as determined, to anhydro-D-glucose, as occurs in β-glucan.

NOTE: These calculations can be simplified by using the Megazyme **Mega-Calc™**, downloadable from where the product appears on the Megazyme website (www.megazyme.com).

14

COMPARISON OF METHODS:

The Megazyme streamlined β -glucan method has been compared to AACC Method 32-22 (the AACC modification of the original Megazyme method¹) in an interlaboratory evaluation, and the results obtained with both methods were very similar. Results with the Megazyme "Streamlined Method" are shown in Table 1. With this method, more than 100 samples can be analysed by a single analyst in one day. This compares to about 20 samples with AACC Method 32-22.

Table 1: Method Performance for Determination of β -D-Glucan in Oats by Streamlined Enzymatic Method.^a

Sample	Mean, % dry basis	S_x	S_R	RSD _r , %	RSD _R , %	r^b	R^c
Oat flour	2.73	0.083	0.241	3.1	8.8	0.232	0.675
Oat bran	6.39	0.296	0.456	4.6	7.1	0.829	1.277
Rolled oats	4.27	0.283	0.315	6.6	7.4	0.792	0.882
Oat bran (breakfast cereal)	3.93	0.404	0.484	12.3	12.3	1.355	1.355
Instant oat bran	8.00	0.480	0.524	6.0	6.6	1.344	1.467

^a Based on results from 8 laboratories; no outliers identified

^b $r = 2.8 \times s_x$

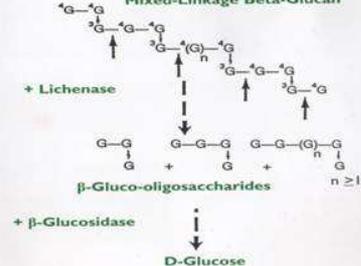
^c $R = 2.8 \times s_R$

STANDARDISATION OF ENZYME ACTIVITY:

β -Glucosidase was standardised using *p*-nitrophenyl β -glucoside as substrate. One unit is defined as the amount of enzyme required to release one μ mole of *p*-nitrophenol from *p*-nitrophenyl β -glucoside (10 mM) per min at pH 4.0 and 40°C. **Lichenase** activity was determined on barley β -glucan (10 mg/mL) in sodium phosphate buffer (pH 6.5) at 40°C using the Nelson/Somogyi reducing sugar procedure (refer to reference 1, page 16 of this booklet). One Unit of activity is defined as the amount of enzyme required to release one μ mole of D-glucose reducing-sugar equivalents per min under the defined assay conditions.

REFERENCES:

- McCleary, B. V. & Glennie-Holmes, M. (1985). Enzymic quantification of (1-3)(1-4)- β -D-glucan in barley and malt. *J. Inst. Brew.*, **91**, 285-295.
- McCleary, B. V. & Nurthen, E. J. (1986). Measurement of (1-3)(1-4)- β -D-glucan in malt, wort and beer. *J. Inst. Brew.*, **92**, 168-173.
- McCleary, B. V. & Codd, R. (1991). Measurement of (1-3)(1-4)- β -D-glucan in barley and oats: a streamlined enzymic procedure. *J. Sci. Fd. Agric.*, **55**, 303-312.
- McCleary, B. V. & Muggford, D. C. (1992). Interlaboratory evaluation of β -glucan analysis methods. In "The changing role of oats in human and animal nutrition". Proceedings of the Fourth International Oat Conference, Adelaide, Australia. Oct 19-23.

Mixed-Linkage Beta-Glucan

Scheme 1. Principle of the mixed-linkage beta-glucan assay procedure.

15

16



Megazyme International Ireland,
Bray Business Park, Bray,
Co. Wicklow,
IRELAND.

Telephone: (353.1) 286 1220
Facsimile: (353.1) 286 1264
Internet: www.megazyme.com
E-Mail: info@megazyme.com

WITHOUT GUARANTEE.

The information contained in this booklet is, to the best of our knowledge, true and accurate, but since the conditions of use are beyond our control, no warranty is given or implied in respect of any recommendation or suggestions which may be made or that any use will not infringe any patents.

19