



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD
ÁREA ACADÉMICA DE NUTRICIÓN

“Efecto de la fermentación ácido láctica por *Lactobacillus plantarum* de harina integral de cebada y malta sobre el contenido de fibra dietética, fitatos, proteína y lisina libre”

T E S I S

Que para obtener el título de
Licenciada en Nutrición

P R E S E N T A

CINTHYA IVETTE PEZA MARQUEZ

Bajo la Dirección de:

DR. ERNESTO ALANÍS GARCÍA

Pachuca, Hidalgo, Noviembre de 2009



INDICE

| | |
|---|-----------|
| ÍNDICE DE FIGURAS | ii |
| ÍNDICE DE TABLAS..... | iii |
| ÍNDICE DE ABREVIATURAS..... | iii |
| 1. RESUMEN | 1 |
| ABSTRACT..... | 2 |
| 2. MARCO TEÓRICO | 3 |
| 2.1. FERMENTACIÓN ÁCIDO LÁCTICA..... | 5 |
| 2.1.1. Género <i>Lactobacillus</i> | 5 |
| 2.2. FERMENTACIÓN DE CEREALES | 6 |
| 2.3. FIBRA DIETÉTICA..... | 10 |
| 2.3.1. Efectos adversos de la fibra | 13 |
| 2.4. ÁCIDO FÍTICO | 14 |
| 2.4.1. Importancia del ácido fítico como componente antinutricional | 15 |
| 2.5. PROTEÍNA | 17 |
| 2.5.1. Lisina | 20 |
| 2.6. CEBADA | 22 |
| 2.6.1. Producción de cebada | 22 |
| 2.6.2. Generalidades del grano de cebada | 23 |
| 2.6.3. Composición química del grano | 24 |
| 2.6.4. Beneficios a la salud..... | 25 |
| 3. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN | 27 |
| 4. JUSTIFICACIÓN..... | 28 |
| 5. OBJETIVO GENERAL | 29 |
| 6. DISEÑO METODOLÓGICO..... | 30 |
| 6.1. Preparación de muestras | 31 |
| 6.2. Determinación de fibra dietética total | 32 |
| 6.2. Determinación de ácido fítico..... | 35 |
| 6.3. Determinación de proteína..... | 36 |
| 6.4. Determinación de lisina libre..... | 37 |
| 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 41 |
| 7.1. Evaluación del contenido de fibra dietética total..... | 41 |
| 7.2. Evaluación del contenido de ácido fítico..... | 44 |
| 7.3. Evaluación del contenido de Proteína | 48 |
| 7.4. Evaluación del contenido de Lisina libre | 51 |
| 8. CONCLUSIONES | 54 |
| 9. BIBLIOGRAFÍA | 56 |
| GLOSARIO | 64 |
| ANEXOS | 65 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | <i>Páginas</i> |
|---|----------------|
| 1 Fermentación láctica homofermentativa y heterofermentativa | 4 |
| 2 Estructura e interacción del ácido fítico con cationes y proteínas | 15 |
| 3 Estructura básica de un aminoácido | 17 |
| 4 Estructura de la lisina | 20 |
| 5 Producción en el 2007 de cebada en México | 22 |
| 6 Cariópside de la cebada y sus estructuras | 24 |
| 7 Diseño experimental de la determinación de fibra dietética, ácido fítico, proteína y lisina | 31 |
| 8 Reacción para la determinación de nitrógeno total por el método de Kjeldahl | 33 |
| 9 Curva patrón utilizada para determinación de ácido fítico | 36 |
| 10 Curva patrón utilizada para determinación de lisina libre | 39 |
| 11 Determinación de fibra dietética en cebada, malta y cebada/malta | 41 |
| 12 Efecto sobre el contenido de fibra dietética durante la fermentación por <i>Lact. plantarum</i> 1407 en cebada, malta y cebada/malta a (a) 28°C y (b) 35°C | 43 |
| 13 Determinación de ácido fítico en harinas integrales de cebada, malta y cebada-malta | 44 |
| 14 Efecto sobre el contenido de ácido fítico durante la fermentación por <i>Lact. plantarum</i> 1407 en cebada, malta y cebada/malta a (a) 28°C y (b) 35°C | 47 |
| 15 Determinación de proteína en harinas integrales de cebada, malta y cebada-malta | 48 |
| 16 Efecto sobre el contenido de proteína durante la fermentación por <i>Lact. plantarum</i> 1407 en cebada, malta y cebada/malta a (a) 28°C y (b) 35°C | 49 |
| 17 Determinación de lisina libre en harinas integrales de cebada, malta y cebada-malta | 51 |
| 18 Efecto sobre el contenido de lisina libre durante la fermentación por <i>Lact. plantarum</i> 1407 en cebada, malta y cebada/malta a (a) 28°C y (b) 35°C. | 52 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | <i>Páginas</i> |
|---|----------------|
| 1 Beneficios de la fermentación de cereales | 8 |
| 2 Cereales fermentados por bacterias ácido lácticas | 9 |
| 3 Contenido de fibra dietética en cereales | 10 |
| 4 Componentes de la fibra alimentaria | 11 |
| 5 Efectos benéficos de la fibra dietética | 12 |
| 6 Contenido de fitatos en cereales | 14 |
| 7 Contenido de proteína en cereales | 18 |
| 8 Clasificación de los aminoácidos | 19 |
| 9 Contenido de aminoácidos esenciales en cereales | 20 |
| 10 Composición química del grano de cebada | 25 |
| 11 Preparación de concentraciones de ácido fítico para curva patrón | 36 |
| 12 Preparación de concentraciones de lisina para curva patrón | 39 |

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

| | |
|-------------|-------------------------------|
| AF | Ácido fítico |
| AGCC | Ácidos grasos de cadena corta |
| BAL | Bacterias ácido lácticas |
| EPS | Exopolisacáridos |
| FAN | Factores antinutrimientales |
| FD | Fibra dietética |
| FI | Fibra insoluble |
| FOS | Fructooligosacáridos |
| FS | Fibra soluble |
| GOS | Galactooligosacáridos |
| P | Fosfato |
| PNA | Polisacáridos no almidonosos |

1. RESUMEN

En la actualidad, se ha incrementado el uso de alimentos fermentados con bacterias ácido lácticas, debido a su sencillez y economía y más recientemente por sus beneficios en la salud, por lo que es necesario tener el conocimiento sobre la fermentación para obtener el producto deseado. En las últimas décadas se han diseñado una gama muy amplia de productos fermentados, los cuales han demostrado tener mejor valor nutricional, menor contenido de factores antinutrimientales, así como una mejora en sus características sensoriales que el alimento previo a la fermentación. Este trabajo tuvo como objetivo determinar el efecto de la fermentación ácido láctica de extractos de cebada y malta sobre el contenido de fibra dietética, ácido fítico, proteína y lisina libre utilizando como cultivo iniciador *Lactobacillus plantarum* 1407, el cual fue aislado de queso. Se partió de muestras de cinéticas de fermentación con dicha cepa de harina integral de cebada, malta y cebada/malta (1:1), a 28 y 35°C, conservadas en congelación (-70°C). La determinación de los componentes se hizo tanto en los sustratos fermentados como en las harinas integrales. Los resultados indicaron un aumento mayor de Fibra Dietética (FD) en todos los extractos fermentados a 28°C. El ácido fítico (AF) presentó su disminución mayor en cebada a ambas temperaturas, sin embargo la mayor reducción se presentó durante la esterilización de los extractos y en el malteado. La proteína y lisina libre presentaron el aumento mayor en malta a ambas temperaturas. Se concluyó que la fermentación con *Lactobacillus plantarum* 1407 modificó la composición principalmente de FD de los diferentes extractos.

Palabras clave: Fermentación, cereales, fibra, fitatos, lisina.

ABSTRACT

The use of lactic acid bacteria for the fermentation of food has been increased due to their simplicity, economy and more recently because of the benefits to the human health, however it's necessary to have the knowledge of the fermentation in order to obtain the wished product. In the last decades a big scale of fermented products has been designed, this products have shown to have a best nutritional value, they have less contained of anti nutritional factors, as soon as improve their sensorial features of the food previous at the fermentation. The objective was to determinate the effect of lactic acid fermentation on the barley and malt extracts over dietary fiber, fitic acid, protein and available lysine using *Lactobacillus plantarum* 1407 isolated from cheese as steater. We began with the models obtained of the fermented kinetics of integral flour barley, malt and barley-malt (1:1), to 28 and 35°C, and kept at -70°C. The analysis was done as in fermented subtracts as in the integral flours. The results indicated a major increase of dietary fiber, in the fermented extracts at 28°C. The fitic acid was reduced in barley in both temperatures, and it was slower during the sterilization in extracts and malted. The protein and available lysine was elevated in malt in both temperatures. We concluded that the fermentation with *Lactobacillus plantarum* 1407 modified of dietetic fiber contained in several extracts.

Key words: Fermentation, cereals, fiber, fitic, lysine.

2. MARCO TEÓRICO

La fermentación es uno de los métodos más antiguos para la producción y conservación de alimentos. Una de las características más sobresalientes es la producción de ácidos orgánicos, reducción de pH y un cambio en la textura (Tatsadjieu *et al.*, 2004). Los microorganismos empleados pueden ser bacterias, levaduras y mohos individualmente o una mezcla de ellos (bacteria-bacteria; bacteria-levadura; bacteria-moho; moho-moho; moho-levadura; levadura-levadura) (Cabeza, 2007). Hay varios tipos de fermentación: láctica, alcohólica, ácido mixta, butanodiólica, butírica y propiónica. La fermentación láctica es la más utilizada y se produce a partir de la lactosa (azúcar propio de la leche) o de otros hidratos de carbono presentes en cereales (trigo, sésamo, centeno, cebada, girasol, mijo), leguminosas (soya remojada) y verduras (Bastardo y Pedrique, 2001).

Desde épocas antiguas las bacterias ácido lácticas (BAL) se han utilizado en la fabricación y conservación de los alimentos. Estos microorganismos son muy versátiles y se encuentran extensamente distribuidos en la naturaleza, se han aislado de una gran variedad de productos fermentados y no fermentados como bebidas alcohólicas (vinos, sidras, chicha de jora, masato, sake), productos lácteos (queso, yogur, leche, etc.), frutas, jugos de frutas, encurtidos, ensilados, productos cárnicos y marinos, etc. (Zamudio y Karin, 2005). Las BAL son capaces de crecer bajo diferentes condiciones ambientales, por lo que son utilizadas en fermentaciones industriales, recibiendo especial atención por parte de la industria farmacéutica y de alimentos, principalmente para la producción de ácido láctico, saborizantes, espesantes, además se ha reportado que incrementan el valor nutricional de los alimentos así como también disminuyen los componentes antinutrimientales (Wilches, 2005). También se utilizan como bioconservadores, debido a su actividad antibacteriana, esto se debe principalmente a la reducción del pH, la producción de ácidos orgánicos, dióxido de carbono, etanol, diacetil, peróxido de hidrogeno, así como también la producción de bacteriocinas, con lo que previenen la

descomposición de los alimentos, teniendo la ventaja de que al biodegradarse no forman compuestos secundarios (González *et al.*, 2003; Zamudio y Karin, 2005).

Los géneros de BAL son: *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium*, *Oenococcus*; otros géneros que se incluyen son: *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Vayococcus*, *Aerococcus*, *Tetragenococcus* y *Allolococcus*, *Paralactobacillus* y *Weissella* (Zamudio y Karin, 2005; Cabeza, 2005).

Las BAL se clasifican en tres grupos de acuerdo con sus características fermentativas: las homofermentativas estrictas, heterofermentativas estrictas, y las heterofermentativas facultativas. Las BAL homofermentativas estrictas degradan las hexosas exclusivamente a ácido láctico y no fermentan las pentosas o el gluconato. Las heterofermentativas estrictos degradan las hexosas a ácido láctico, ácido acético, etanol y CO₂, y las pentosas a ácido láctico y ácido acético (Figura 1). Las heterofermentativas facultativas fermentan las hexosas a ácido láctico y puede producir CO₂ a partir del gluconato pero no de la glucosa. Ellos también fermentan las pentosas para producir ácido láctico y acético (Cabeza, 2005).

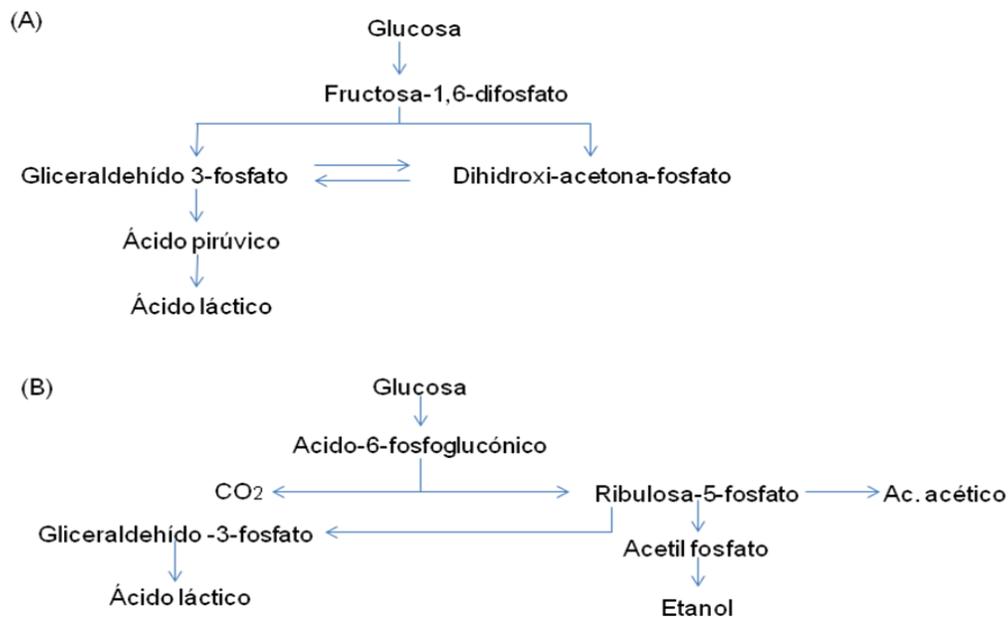


Figura 1. Fermentación láctica (A) homofermentativa, (B) heterofermentativa.

Modificado de: Cabeza, 2005

2.1. FERMENTACIÓN ÁCIDO LÁCTICA

La fermentación ácido láctica es un proceso económico y sencillo que causa cambios físicos y químicos, modificando la funcionalidad de los alimentos, además de mejorar las características sensoriales, las cuales dependen principalmente de la cantidad de ácido láctico, ácido acético y distintos compuestos volátiles aromáticos, así como mayor cantidad de alcohol y aldehídos, acetato de etilo y diacetilo, producidos por vía metabólica homofermentativa y heterofermentativa. Se sabe que en las principales rutas bioquímicas la producción del sabor puede ayudar en la correcta elección de los microorganismos iniciadores, además de que también depende de la composición química del sustrato y de las condiciones del medio ambiente (pH, temperatura, aerobiosis/anaerobiosis), al controlar ciertas características se obtienen los productos deseables, con lo cual se mejora su aceptación. Además de aumentar su vida útil (Dávila *et al.*, 2003; Charalampopoulos *et al.*, 2002).

2.1.1. Género *Lactobacillus*

El género *Lactobacillus* está comprendido por bacterias Gram-positivas, no esporuladas en forma bacilar de 0.5-1.2 x 1.0-10.0 µm, son anaerobias facultativas ó microaerófilas. Pueden poseer motilidad, se mueven ayudados por flagelos peritricos. Los lactobacilos son auxótrofos quimioorganotróficos, necesitan medios complejos para su crecimiento, degradan la sacarosa para producir lactato. La temperatura óptima de crecimiento de los lactobacilos está entre 30-40 °C (Waldir *et al.*, 2007; Cabeza, 2005). Estas bacterias se caracterizan por sus amplios requerimientos nutricionales, especialmente con respecto a fuentes de nitrógeno (aminoácidos, péptidos, bases púricas y pirimídicas), además de vitamina B2, B12 y B5, por ello el crecimiento se estimula suplementando el medio de cultivo con extracto de levadura, peptona y aminoácido (Cabeza, 2005; Wilches, 2005). Su hábitat natural es variado pudiéndolos encontrar en la mucosa humana desde la boca hasta el recto y también está presente en el tracto gastrointestinal de animales domésticos, además de insectos, arañas, serpientes y plantas (Cabeza, 2005).

2.2. FERMENTACIÓN DE CEREALES

La fermentación ácido láctica mejora el valor nutricional y la digestibilidad de los cereales. Se ha reportado la disminución de oligosacáridos responsables de la producción de flatulencias, así como un incremento en monosacáridos y disacáridos en leguminosas fermentadas (Dávila *et al.*, 2003). Granito y colaboradores (2001) (citado por Dávila *et al.*, 2003) demostraron que también la fibra soluble es un buen sustrato para la microbiota endógena y que la producción de gas es al menos de igual magnitud que la producida por los α -galactósidos. Se ha reportado que la fermentación natural de *Phaseolus vulgaris* es capaz de eliminar en un 100% la fibra soluble presente y por *ende*, la producción de flatulencia.

La reducción del contenido de fibra total en cereales (especialmente fibra insoluble) después del proceso de fermentación, puede ser resultado de la degradación de los polisacáridos de la fibra dietética por microorganismos en el medio de fermentación. En el caso de *Lact. plantarum* produce la enzima β -D-glucosidasa la cual provoca la reducción de la fibra total, debido a la degradación de β -glucanos (Lambo *et al.*, 2005). Por otra parte, estudios recientes han mostrado que el crecimiento de ciertas cepas de BAL promueven la formación de exopolisacáridos (EPS), mismos que son capaces de mejorar la textura, la viscosidad del producto final y las propiedades tanto nutricionales, sensoriales, y funcionales por sus efectos hipocolesterolemiantes, probióticos, antitumorales, antiulcerosos, inmunomoduladores y disminución en la respuesta glicémica (Zamudio y Karin, 2005; Lambo *et al.*, 2005; Farnworth *et al.*, 2007; Wilches, 2005). Sin embargo, la producción de EPS es inestable ya que las BAL ganan o pierden la capacidad de formar polímeros de manera aleatoria. Se ha reportado que el gen responsable de la producción de EPS esta codificado a nivel plasmídico, y que estos se pierden al cultivar las cepas a temperatura de 40°C (Wilches, 2005).

En la fermentación ácido láctica de diferentes cereales, como el maíz, sorgo y mijo, se ha reportado una eficiente reducción de la cantidad de ácido fítico considerado un

factor antinutricional (FAN) (Charalampopoulos *et al.*, 2002), por ello las fermentaciones se han empleado también para destruir los fitatos, estos compuestos tienen la capacidad de quelar minerales, esto como resultado del aumento de la actividad fitasa y su degradación depende de las condiciones de fermentación (Sanni *et al.*, 1999). Durante la fermentación la actividad de la fitasa endógena se presenta a $\text{pH} < 5.5$, provocando la liberación de minerales debido a la degradación de fitatos (Hammes *et al.*, 2005). Esto se ha observado en la fermentación láctica de maíz y mijo perla (Sanni *et al.*, 1999), teniendo una actividad óptima, dicha fitasa entre 35 y 45°C (Dávila *et al.*, 2003). Por otro lado, la presencia de AF en la fermentación afecta el metabolismo de las BAL, esto es debido a que el flúor, requerido por las bacterias esta acomplejado por el fitato en forma natural (Hammes *et al.*, 2005).

Se ha reportado que la fermentación mejora el contenido y biodisponibilidad de proteína al incrementar el valor nutritivo relativo y la lisina disponible. La fermentación bacteriana involucra actividades proteolíticas en la que se da un incremento de la biodisponibilidad de aminoácidos esenciales (Haard, 1999). Por otra parte, también se ha determinado un incremento de riboflavina, tiamina y niacina (Charalampopoulos *et al.*, 2002). Khetarpaul y Chauhan (1990) (cita por Charalampopoulos *et al.*, 2002) observaron un aumento en la biodisponibilidad de minerales en mijo perla cuando fue fermentado con cultivos de lactobacilos y levaduras. En base a lo dicho anteriormente, es claro que la variedad de productos fermentados, a base de cereales, aporta amplios beneficios tanto nutricional, de inocuidad, así como funcional y sensorial (Tabla 1).

Tabla 1. Beneficios de la fermentación de cereales

| BENEFICIOS | REF. |
|--|-------------------------------|
| Efecto sobre sus propiedades sensoriales: aroma, color, textura y el gusto. | Hammes <i>et al.</i> , 2005 |
| Incremento del valor nutritivo al remover FAN como fitatos, enzimas inhibitorias, polifenoles y taninos, con lo que aumenta la biodisponibilidad de los componentes. | Hammes <i>et al.</i> , 2005 |
| Eliminación de componentes indeseables como micotoxinas, toxinas endógenas, componentes cianogénicos y carbohidratos productores de flatulencia. | Hammes <i>et al.</i> , 2005 |
| Reducción del tiempo de cocción. | Hammes <i>et al.</i> , 2005 |
| Aumento de la seguridad microbiológica del producto porque inhibe microorganismos patógenos, por la producción de ácido. | Alvarado <i>et al.</i> , 2006 |

El proceso de fermentación de cereales es llevado a cabo bajo ciertas condiciones tecnológicas como son la adición de agua, la reducción del tamaño de partícula por molienda, el control del desarrollo de microorganismos y actividad enzimática. En especial, la adición de agua afecta los factores ecológicos, ya que al aumentar la actividad de agua hay una reducción del potencial redox, así como un descenso mínimo de pH por la respiración y la fermentación, resultando en una disponibilidad de moléculas por actividad hidrolítica endógena (amilólisis, proteólisis y lipólisis) y por actividad fisiológica de microorganismos añadidos deliberadamente o por contaminación. El control del proceso de fermentación de los cereales es básico para obtener diversos productos con cualidades definidas, ya que es afectado por variables particulares (Hammes *et al.*, 2005), entre las que se incluyen:

- El tipo de cereal que afecta la cantidad y calidad de los carbohidratos como sustratos de fermentación primaria, fuentes de nitrógeno, factores de crecimiento como vitaminas y minerales, capacidad amortiguadora y eficacia de los inhibidores de crecimiento.
- Contenido de agua.
- Grado y etapa de reducción de grano.

- Duración y temperatura de la fermentación.
- Adición de sustratos fermentables como son: azúcar, sal, y lúpulo.
- Fuentes de actividad aminolítica que son requeridas para aumentar el azúcar fermentado del almidón o de otros polisacáridos.

En la tabla 2 se enlistan algunos productos de cereales por fermentación láctica.

Tabla 2. Cereales fermentados por bacterias ácido lácticas

| PRODUCTO | BAL | REF. |
|--|---|---------------------------------------|
| Alimentos para ablactación (mezclas de cebada y soya germinada o no germinada) | <i>Saccharomyces cerevisiae</i> y <i>Lact. plantarum</i> | Sanni <i>et al.</i> , 1999 |
| Ogi (maíz, sorgo y mijo) | <i>Lact. sp.</i> y levaduras | Odunfa 1999 |
| Kenkey (maíz) | <i>Lact. fermentum</i> y <i>Lact. reuteri</i> | |
| Mahewu o magou (maíz o avena) | <i>Streptococcus lactis</i> , <i>Lact. delbrueckii</i> y <i>Lact. bulgaricus</i> | |
| Mawe (maíz) | <i>Lact. fermentum</i> , <i>Lact. cellobiosis</i> , <i>Lact. brevis</i> y levaduras. | |
| Kisra (sorgo) | <i>Lact. delbrueckii</i> y <i>Lact. bulgaricus</i> | |
| Bogobe (sorgo) | <i>Lact. sp.</i> y levaduras | |
| Alimentos a base de arroz: Idli, Dhokla y Dosa | <i>Lact. mesenteroides</i> , <i>S. faecalis</i> , <i>T. candida</i> , <i>T. pullulans</i> | Cherl-Ho 1999 |
| Khanomjeen (arroz) | <i>Lact. sp.</i> y <i>Streptococcus sp.</i> | |
| Puto (arroz y azúcar) | <i>Lact. mesenteroides</i> , <i>S. faecalis</i> y levaduras | |
| Jalebies (harina de trigo) | <i>S. bayanus</i> | |
| Pozol (maíz) | <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Lact. plantarum</i> , <i>Lact. confusus</i> , <i>Lactococcus lactis</i> y <i>Lact. raffinolactis</i> y levaduras. | Quintero-Ramírez <i>et al.</i> , 1999 |
| Masa ácida | <i>Lact. plantarum</i> , <i>Lact. brevis</i> , <i>Lact. crispatus</i> , <i>Lact. sanfranciscensi</i> , <i>Lact. ponds</i> , <i>Leuconostoc sp.</i> y <i>Streptococcus sp.</i> y levaduras | León <i>et al.</i> , 2006 |

2.3. FIBRA DIETÉTICA

La fibra dietética (FD) es un componente esencial en la alimentación tanto humana como animal. Productos de cereales, particularmente de granos enteros, son la fuente más importante de FD (Dongowski *et al.*, 2002) (Tabla 3). La FD son los restos de la parte comestible de las plantas así como polisacáridos, carbohidratos no digeribles, lignina y sustancias asociadas que resisten la hidrólisis de las enzimas digestivas, la digestión y absorción en el intestino delgado con una completa o parcial fermentación en el intestino grueso humano (Molina y Martín, 2007; Cherbut, 2002). Las formas específicas de fibra dietética son fácilmente fermentables por las bacterias colónicas específicas, tales como especies de bifidobacteria y lactobacilos, provocando la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), como el butirato, acetato y propionato, especialmente el butirato, puede ser benéfico para el intestino grueso ya que reduce los factores de riesgo de las enfermedades inflamatorias, el síndrome de colon irritable y el cáncer colorrectal (Valencia y Román, 2004; García, 2004).

Tabla 3. Contenido de fibra dietética en cereales

| CEREAL | % |
|-------------------|-----------|
| Centeno | 16.1 |
| Cebada | 12.0-18.8 |
| Avena sin cascara | 10.9-13.9 |
| Maíz | 9.4-14.9 |
| Trigo | 9.9-14.6 |
| Sorgo | 8.3-15.3 |

FUENTE: Serna, 2001

Para Molina y Martín (2007) la fibra alimentaria son los polisacáridos no almidón o todos los polisacáridos y lignina de la dieta que no son digeridos por las secreciones endógenas en el tracto digestivo humano y clasifican a los componentes de la fibra alimentaria en tres grupos: componentes de la pared celular de los vegetales, polisacáridos utilizados como aditivos alimentarios y compuestos asociados a la fibra (Tabla 4).

Tabla 4. Componentes de la fibra alimentaria

| GRUPO | COMPONENTES | FUNCION | REF. |
|---|--|---|--------------------------------------|
| Componentes de la pared celular de los vegetales | Celulosa | No puede degradarse por la amilasa del intestino humano. | Molina y Martin, 2007 |
| | Hemicelulosa | No se digiere en el intestino delgado del humano, aunque si se desdoblán parcialmente en el colon por acción de la microbionta. | |
| | Sustancias pécticas | Son solubles en agua y tienen la capacidad para formar geles en presencia de ácidos, sales y azúcares. Se hidrolizan y fermentan en el colon produciendo CO ₂ y AGCC. | |
| | Ligninas Cutinas, suberinas y ceras | Son totalmente indigeribles Acción impermeabilizante en la pared celular. | |
| Polisacáridos utilizados como aditivos alimentarios | Gomas vegetales | Utilizados en la industria de alimentos como espesantes, aglutinantes y estabilizantes. | Molina y Martin, 2007 |
| | Mucilagos | Absorben de 60 a 100 veces su peso en agua formando geles. | |
| | β-glucanos | Son polímeros de glucosa que contienen enlaces β (1Æ 3), así como β (1Æ 4) en varias proporciones. Son solubles en agua y forman soluciones viscosas. | |
| | Galactomananos | Se utiliza con la goma guar y otras gomas en combinación con los carragenatos en la elaboración de alimentos de bajas calorías. | |
| | Carragenatos | Aditivo alimentario para alimentos bajos en calorías. Mejora la textura del producto y las propiedades ligantes. | |
| | Agar | Se aplica por sus propiedades gelificantes, estabilizantes y espesantes. Se puede utilizar para reemplazar el almidón en comidas rápidas, pan y postres. Se utiliza como laxante. | |
| | Ácido algínico | Propiedad de higroscopicidad, gelificación, modificación de la viscosidad y estabilidad. | |
| | Goma xantana o xantano | Sus principales propiedades funcionales son: viscosidad y sus capacidades gelificante, hidrofílica y reológica. | |
| | Polidextrosa | Es un buen humectante y efectivo para controlar la humedad de los productos. Puede reemplazar al azúcar y a la grasa en algunos alimentos. | |
| Compuestos asociados a la fibra | Inulina y oligofruktosa | Se pueden considerar como alimentos prebióticos, porque mejoran el balance de la microbiota. Este beneficio incluye resistencia a patógenos, reducción de colesterol y triglicéridos en la sangre, propiedades antitumorales, regulación hormonal, estimulación inmunológica y mejoran la densidad mineral en los huesos. | Molina y Martin, 2007; Cherbut, 2002 |
| | Polisacáridos no almidonosos | Son hidrolizados y absorbidos en el intestino delgado. Estos almidones resistentes son la mayor fuente de hidratos de carbono digeridos por la microbiota en el colon. El grado de hidrolización en el intestino delgado depende de la fuente y de la estructura de los almidones. | |

La FD puede ser dividida de acuerdo a su solubilidad en insoluble y soluble en fluidos intestinales, sus efectos terapéuticos están determinados principalmente por los porcentajes de estas dos fracciones. La fibra soluble (FS) es fermentada en alta proporción y consiste principalmente en polisacáridos no almidonosos (PNA), en especial β -glucanos y arabinosilanos, pectinas, gomas, mucílagos y algunas hemicelulosas. La fibra insoluble (FI) es escasamente fermentada, contiene ligninas, celulosa, hemicelulosa, PNA así como arabinosilanos insolubles en agua (Charalampopoulos *et al.*, 2002; Molina y Martín, 2007). En la Tabla 5 se enlistan una serie de efectos benéficos de la FD reportados por diferentes autores.

Tabla 5. Efectos benéficos de la fibra dietética

| FIBRA SOLUBLE | REF. | FIBRA INSOLUBLE | REF. |
|---|----------------------------|---|----------------------------|
| Acción hipocolesterolemica | Saura <i>et al.</i> , 2002 | Efecto laxante y regulador intestinal | Valencia y Román, 2004 |
| Desarrollo de la microbiota | | Estimula la salivación | |
| Disminución de la glucosa postprandial y el contenido de insulina | | Disminuye el riesgo de padecer cáncer de colorrectal, de mama y de próstata | Gómez y Pedrón, 2005 |
| Mayor excreción de grasa y proteína | | En el niño mejora el estado inmunitario en relación con el aporte de oligosacáridos | |
| Disminución del riesgo de Enfermedad Cardiovascular | | Disminución del tiempo de tránsito intestinal de los alimentos | Saura <i>et al.</i> , 2002 |
| Favorece la absorción de magnesio | Cabrera y Cárdenas, 2006 | Acelera el vaciamiento gástrico | García, 2004 |
| Disminución de la presión sanguínea sistólica | | Disminuye la presión intraluminal | |
| Retrasa el vaciamiento gástrico | García, 2004 | Disminuye la incidencia de apendicitis | |
| Sensación de saciedad | | Capacidad de intercambio cationico | |

Sin embargo, a pesar de conocer los beneficios que aporta no se han establecido recomendaciones específicas del consumo de fibra dietética. Para los adultos se sugiere un aporte entre 20-35 g/día. La ingesta más aceptada de fibra en población pediátrica es la establecida por la American Health Foundation, la cual recomienda entre los 3 y 20 años de edad una ingesta mínima equivalente a la edad del niño en años más 5, con un límite superior entre 25-30 g. En lo que respecta a los niños menores de dos años y ancianos no se han establecido las cantidades idóneas de consumo (Escudero y González, 2006; Gómez y Pedrón, 2005).

Los principales métodos para el análisis de FD son: métodos gravimétricos no enzimáticos, métodos gravimétricos enzimáticos, métodos químicos enzimáticos. Por lo anteriormente mencionado en la definición de FD no hay un método específico para determinar toda la FD, ya que algunos componentes no son cuantificados con cualquiera de los tres métodos, por lo que se recomienda utilizar los 3 métodos para cuantificar las tres categorías de los componentes (Champ *et al.*, 2003).

2.3.1. Efectos adversos de la fibra

Desde el punto de vista de seguridad en la adolescencia, con una ingesta inadecuada de minerales (calcio, hierro y zinc) y un consumo de FD mayor de 30 g/día, podría causar deficiencias (Agostoni *et al.*, 1995). En lo que se refiere a adultos la ingesta superior a 50 g/día podrían provocar problemas de flatulencia, distensión abdominal, meteorismo, dolor abdominal, diarrea crónica inespecífica, problemas de malabsorción, obstrucción intestinal, formación de fitobezoares y en caso de estreñimiento severo podría ser contraproducente. Estos efectos son especialmente atribuidos a los fructooligosacáridos y galactooligosacáridos (FOS y GOS respectivamente). Se recomienda que el consumo de fibra se realice de forma gradual para que el tracto gastrointestinal se vaya adaptando (Escudero y González, 2006; Sanjurjo y Ojembarrena, 2001).

2.4. ÁCIDO FÍTICO

El ácido fítico (AF) se encuentra ampliamente distribuido en el reino vegetal. Esta molécula representa la principal fuente de fósforo (P), siendo de 50 – 80% del P total, la mayor parte del AF se localiza en aleuronas celulares. Sin embargo, en esta forma el P permanece no disponible para el hombre y animales monogástricos, debido a que no están provistos de suficiente actividad de fosfatasas endógenas (fitasas), que sean capaces de liberar el grupo fósforo de la estructura del fitato (Martínez *et al.*, 2002).

Los cereales con mayor contenido de AF son el trigo integral, la avena, el maíz y la cebada (1.17-1.43%, 0.20-0.35%, 0.14-0.35% y 0.07-0.3% respectivamente) (Tabla 6). En oleaginosas y leguminosas los niveles de AF son elevados, constituyen un porcentaje de 60-82% del P total; en raíces y tubérculos presentan cantidades moderadas de AF, siendo el P fítico el 21-25% del total, mientras que en verduras las cantidades de AF encontradas son muy pequeñas (Deshpande, 2002; Martínez *et al.*, 2002).

Tabla 6. Contenido de fitato en cereales

| CEREALES | mg AF* | % DE FOSFORO TOTAL |
|------------------|-------------|--------------------|
| Trigo | 170 – 280 | 47 – 86 |
| Centeno | 247 | 73 |
| Maíz | 146 – 353 | 52 – 97 |
| Arroz | 157 – 240 | 68 |
| Cebada | 70 – 300 | 32 – 80 |
| Avena | 208 – 355 | 50 – 88 |
| Sorgo | 206 – 280 | 77 – 88 |
| Trigo sarraceno | 322 | 70 |
| Mijo | 83 | 57 |
| Salvado de trigo | 1170 - 1439 | 89 – 97 |

* mg AF por cada 100 g de cereal

FUENTE: (Deshpande, 2002)

El nombre químico del AF es *myo-inositol* 1, 2, 3, 4, 5, 6 - *hexakis* (dihidrógeno fosfato) (Godoy y Chicco, 2005). En la figura 2 se muestra su estructura, a pH neutro y al pH que normalmente presentan los alimentos (pH ácido), se presenta como una molécula cargada negativamente y por tanto muy reactiva (Martínez *et al.*, 2002). El AF es una molécula altamente inestable con actividad antinutricional, debido a que es un excelente agente quelante de minerales como Cu^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$, Mg^{2+} y Ca^{2+} , además reduce la digestibilidad de proteínas, almidón y lípidos, debido a que forma complejos e inhibe enzimas amilolíticas como α -amilasa, β -glucosidasa y enzimas proteolíticas principalmente pepsina, en menor cantidad tripsina y quimiotripsina (Deshpande, 2002; Martínez *et al.*, 2002, Godoy y Chicco, 2005).

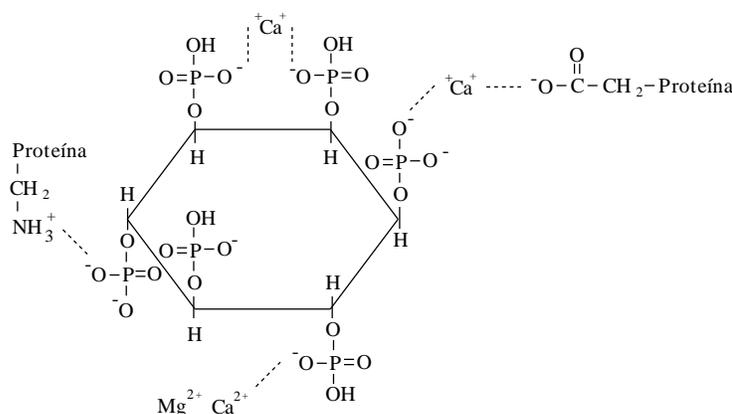


Figura 2. Estructura e interacción del ácido fítico con cationes y proteínas

FUENTE: Martínez *et al.*, 2002

2.4.1. Importancia del ácido fítico como componente antinutricional

Hasta hace pocos años, el AF se ha considerado como un FA (Pineiro, 2008). Sin embargo, recientemente se ha reportado que el AF a bajas concentraciones tiene efectos positivos, entre los que se pueden citar el retardo de la digestibilidad del almidón, disminución en la velocidad de utilización de la glucosa, reducción de la peroxidación lipídica, hipocolesterolemia, prevención de cálculos renales, tratamiento de la hipercalciuria, control de la caries dental, mejora de la capacidad de captación

de oxígeno de los glóbulos rojos (Martínez *et al.*, 2002; Deshpande, 2002) antídoto frente a la intoxicación por metales (Pineiro, 2008), prevención de cáncer de colon y mama, esto por su capacidad antioxidante (Deshpande, 2002; Pineiro, 2008). Actualmente es considerado un compuesto activo capaz de ejercer un efecto biológico, ya sea en el propio intestino o fuera del mismo, una vez absorbido. De hecho, se le reconoce como prebiótico (Pineiro, 2008).

Los datos reportados anteriormente apoyan la idea de que el AF, en proporciones adecuadas, pueden tener un papel promotor para la salud, sin embargo, hasta el momento no se han tenido resultados contundentes que indiquen a que concentración es benéfico (Pineiro, 2008).

Dado que el AF no tiene un espectro de absorción característico, no existen reactivos específicos para su identificación, su determinación ha constituido un problema analítico durante mucho tiempo. En la actualidad, los métodos que se utilizan son: métodos de precipitación, métodos de intercambio iónico, métodos cromatográficos HPLC, Resonancia magnética nuclear, método fluorimétrico (Martínez *et al.*, 2002), método enzimático (Vinjamoori *et al.*, 2004), método colorimétrico (Shi *et al.*, 2003) y cromatografía iónica. Este último método es el de mejor especificidad para la determinación de ácido fítico, aunque requiere más tiempo y su ejecución es más compleja (Vinjamoori *et al.*, 2004; Sotelo *et al.*, 2002).

2.5. PROTEÍNA

Las proteínas de los cereales se localizan en todos sus tejidos, pero el germen y la capa de aleurona concentran la mayor cantidad de compuestos nitrogenados (Serna, 2001). Las proteínas son macromoléculas que contienen carbono, hidrogeno y oxigeno, pero además tienen un 16% de nitrógeno, junto con azufre y, en ocasiones fósforo, hierro o cobalto. La estructura básica de las proteínas es el aminoácido (Figura 3). Las proteínas constituyen esencialmente el protoplasma de las células, tanto animales como vegetales y tienen un papel fundamental en su estructura y función, por lo que debemos obtenerlos del exterior a través de los alimentos. Entre sus principales funciones biológicas están: estructural, función plástica, regulación genética, función inmune, reguladora o catalítica, homeostasis y equilibrio ácido-base. La conformación y función de las proteínas están determinadas por los aminoácidos que las componen y por cómo se alinean formando la llamada cadena polipeptídica (Vázquez *et al.*, 2005).

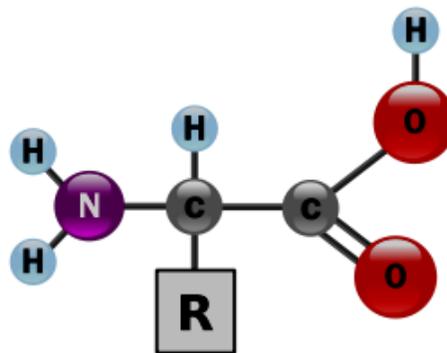


Figura 3. Estructura básica de un aminoácido

FUENTE: Vázquez *et al.*, 2005

Los productos de origen animal son la principal fuente de proteína, seguida de leguminosas, cereales, frutas y verduras. La cantidad de proteínas en los cereales difiere notablemente entre los diferentes granos e inclusive dentro del mismo cereal de unas cosechas a otras (Tabla 7). Esto debido a la fuerte interacción entre el genotipo y las condiciones ambientales que prevalecen durante el desarrollo y maduración del grano. Las proteínas de los cereales se han dividido en cuatro

categorías según su solubilidad en: albúminas, globulinas, prolaminas y glutelinas. Aproximadamente el 80% de las proteínas de los cereales es de almacenamiento y reserva. La fracción proteica más abundante en la mayoría de los granos es la que contiene a las prolaminas (Serna, 2001).

Tabla 7. Contenido de proteína en cereales

| CEREALES | PROTEÍNA CRUDA |
|------------|----------------|
| | % |
| Arroz rojo | 7.3 |
| Sorgo | 8.3 |
| Centeno | 8.7 |
| Avena | 9.3 |
| Maíz | 9.8 |
| Trigo | 10.6 |
| Cebada | 11.0 |
| Mijo perla | 11.5 |

FUENTE: Serna, 2001

Existen 22 aminoácidos diferentes, de los cuales 14 se sintetizan en el cuerpo humano a partir de precursores fácilmente accesibles (aminoácidos esenciales o esqueletos carbonados), a estos se denominan no esenciales. A los 8 que no son biosintetizados por el organismo se les denomina esenciales o indispensables, ya que el hombre debe ingerirlos a través de la dieta para cubrir sus necesidades fisiológicas, ya que su ausencia o insuficiencia induce un balance negativo, pérdida de peso, retraso en el crecimiento de niños y síntomas de enfermedad. Existe otro grupo de aminoácidos que pueden ser esenciales solo en ciertas situaciones clínicas: condicionalmente esenciales (Tabla 8) (Vázquez *et al.*, 2005; Luna, 2007).

Tabla 8. Clasificación de los aminoácidos

| ESENCIALES | CONDICIONALMENTE ESENCIALES | NO ESENCIALES |
|--------------|-----------------------------|---------------|
| Leucina | Prolina | Glutamato |
| Isoleucina | Serina | Alanina |
| Valina | Tirosina | Aspartato |
| Triptófano | Cisteina | Ornitina |
| Fenilalanina | Taurina | Citrulina |
| Metionina | Glicina | |
| Treonina | Glutamina | |
| Lisina | | |
| *Histidina | | |
| *Arginina | | |

* Esenciales durante períodos de rápido crecimiento celular (lactancia e infancia)

FUENTE: Vázquez *et al.*, 2005

Los requerimientos nutricionales de proteína son 0,8 g/kg/día para adultos, con valores superiores para la infancia (1.6 - 2.2 g/kg/día para menores de 1 año), niñez (1,2 g/kg/día, 1-3 años), escolares-pubertad (1 g/kg/día, 4-13 años) y adolescencia (0,85 g/kg/día, 14-18 años) y mujeres gestantes y lactantes (1,1 g/kg/día) o bien de 10-15% del gasto energético total (Kathleen y Escott, 1998).

Existen diferentes métodos para la determinación de proteína como son: el método de Kjeldahl, índice de solubilidad de nitrógeno o ISN, índice de dispersabilidad de proteína o IDP (Luna, 2007), Dumas (Villarreal *et al.*, 2008), método de Biuret, método de Bradford y el método del ácido bicinconínico (BCA) el cual es sencillo, rápido, muy sensible, además de mostrar gran tolerancia a compuestos que afectan a otros métodos (Fernández y Galván, 1987).

2.5.1. Lisina

La lisina es el aminoácido limitante en todos los cereales, seguido de triptófano y treonina, por lo que la proteína de los granos es considerada de bajo valor biológico comparada con la carne y la leche. En la tabla 9 se muestra el contenido de aminoácidos esenciales en algunos cereales. Los principales aminoácidos en los cereales son glutamina, prolina y glicina (Serna, 2001). La lisina es un aminoácido esencial (Figura 4) y necesario para la síntesis de proteína, tejido conectivo y neurotransmisores, así como para el metabolismo de los carbohidratos y los ácidos grasos (Solórzano, 2003).

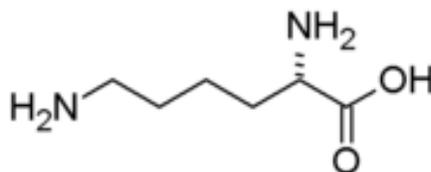


Figura 4. Estructura de la lisina

FUENTE: Solórzano, 2003

Tabla 9. Contenido de aminoácidos esenciales en cereales

| AMINOÁCIDO | CEBADA | SORGO | ARROZ | CENTENO | AVENA | MAÍZ | TRIGO |
|--------------|--------|-------|-------|---------|-------|------|-------|
| Lisina | 3.5 | 2.1 | 3.9 | 3.5 | 4.2 | 2.7 | 2.3 |
| Metionina | 2.2 | 1.0 | 1.7 | 1.6 | 2.3 | 1.9 | 1.2 |
| Treonina | 3.2 | 3.3 | 3.7 | 3.1 | 3.3 | 3.5 | 2.4 |
| Fenilalanina | 5.2 | 5.1 | 5.2 | 5.0 | 5.4 | 4.8 | 4.6 |
| Isoleucina | 3.6 | 4.1 | 4.5 | 3.7 | 4.2 | 3.6 | 3.0 |
| Leucina | 6.6 | 14.2 | 8.1 | 6.4 | 7.5 | 12.4 | 6.3 |
| Valina | 5.0 | 5.4 | 6.7 | 4.9 | 5.8 | 4.9 | 3.6 |
| Triptófano | 1.5 | 1.0 | 1.3 | 0.8 | ND | 0.5 | 1.5 |
| Arginina | 4.6 | 3.5 | 8.8 | 5.9 | 6.4 | 4.8 | 4.0 |
| Histidina | 2.1 | 2.1 | 2.5 | 2.4 | 2.4 | 2.9 | 2.0 |

FUENTE: Serna, 2001 (g/100g prot.)

La lisina puede mejorar la producción de energía, la liberación de la hormona del crecimiento humana, aumentar la absorción de calcio y también se requiere para producir acetil CoA, de igual modo se necesita junto con la metionina para formar el dipéptido de carnitina, el cual ayuda en el metabolismo mitocondrial de los ácidos grasos de cadena larga. La lisina al competir con la arginina para el transporte puede limitar la accesibilidad de este aminoácido en las células infectadas por el virus del herpes, retrasando la replicación. Igual puede ayudar a prevenir los enlaces cruzados de las proteínas endógenas corporales (esto significa que nos ayuda a retrasar uno de los aspectos del envejecimiento), además de cálculos renales (al prevenir la excreción de calcio en la orina, un componente de los cálculos renales de oxalato de calcio), y osteoporosis, además de ayudar a disminuir los niveles elevados de triglicéridos y contrarrestar la toxicidad por plomo. La anemia puede ocurrir como resultado de la deficiencia de lisina, así como la caída del cabello debido que participa en las propiedades reductoras, además de formar complejos disociables con el hierro (Solórzano, 2003). Los requerimientos de este aminoácido en mg/Kg/día, para lactantes (3-4 meses) es de 103, Niños (2 años) de 64, Niños (10-12 años) de 44 y Adultos de 12 (Kathleen y Escott, 1998).

La estimación de lisina en alimentos puede involucrar la determinación de lisina total, disponible o libre. El método microbiológico no destructivo, es un método que resulta económico (Vega *et al.*, 2003). Otros métodos son: método de Moughan y Rutherford (Gutiérrez *et al.*, 2008), método de Kakade y Liener (Torres *et al.*, 2001), método de Contreras (Quitral *et al.*, 2001) y método de Hurrel (Hurrel *et al.*, 1979).

2.6. CEBADA

2.6.1. Producción de cebada

En la actualidad la cebada es el cuarto cereal cultivado a nivel mundial después del trigo, arroz y maíz, representando el 7% del total de la producción de granos. En México la cebada es un cultivo de gran importancia económica y social. La región centro del país: Hidalgo, Tlaxcala, Estado de México, Puebla y Zacatecas; son los principales productores de cebada, representando aproximadamente el 93% de la producción nacional, que fue de 429,114.86 Ton en el 2007 (SAGARPA, 2008), ciclo primavera-verano 2007, siendo Hidalgo el principal productor de cebada con 180,228.2 Ton, representando el 42%; cabe mencionar que su producción disminuyó con respecto al 2006 por siniestros (Figura 5). Su principal uso es la fabricación de cerveza, la alimentación del ganado, la industria panificadora, la producción de alcohol, como sustituto de café y la fabricación de azúcares. La cebada producida en ambos estados es de la especie *Hordeum sativum* jess de seis hileras de grano (Bancomext, 2007; López *et al.*, 2005, SAGARPA, 2008).

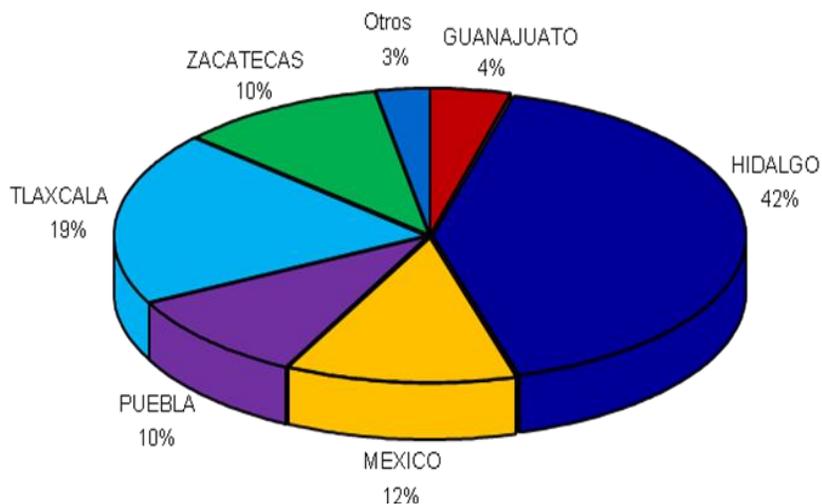


Figura 5. Producción en el 2007 de cebada en México

FUENTE: Datos publicados por el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), con información de las Delegaciones de SAGARPA.

2.6.2. Generalidades del grano de cebada

La cebada se cosecha con toda la cascara y está formada por la lemma y pálea. La cariósida está constituida por el pericarpio, cubiertas de la semilla, germen y endospermo (Figura 6). Las células de aleurona se localizan en las dos o tres capas más exteriores de células. Los granos de tamaño medio, pesan aproximadamente 35 mg. La aleurona de algunas variedades es azul, mientras que en otras es blanca. Las células del endospermo contienen almidón incluido en una matriz proteica. El almidón se presenta en granos grandes lenticulares y en pequeños gránulos esféricos (Hoseney, 1993). La cebada se utiliza principalmente para la producción de malta, la cual se obtiene por germinación del grano y secado, o se canaliza hacia la alimentación de animales domésticos. Existen cebadas malteras que provienen de variedades de dos o seis carreras. Una de las principales características que diferencian a la cebada maltera de la forrajera es el contenido proteico y el potencial diastásico una vez que son germinadas. Las variedades malteras tienen menor contenido proteico, por lo tanto mayor cantidad de almidón o carbohidratos fermentables en el grano. Por lo general, el contenido proteico de las variedades malteras es de 9.5-12.5%, y las no malteras de 12.5-17%. Las variedades que son mejores nutricionalmente para especies monogástricos son: las desnudas (debido a un menor contenido de fibra) y las altas en lisina (por su mejor calidad proteica o balance de aminoácidos esenciales) (Serna, 2001).

Los granos malteados tienen una composición similar a la de los granos en su estado natural, pero con algunas diferencias ya que son más ricos en minerales, vitaminas del grupo B y una pequeña cantidad de vitamina C, que se forma durante la germinación, contienen menos almidón y más azúcar, por lo que tienen mayor digestibilidad, además de ser más dulces y aromáticos, este efecto es por la adición de las enzimas (amilasas) (Pamplona, 2004).

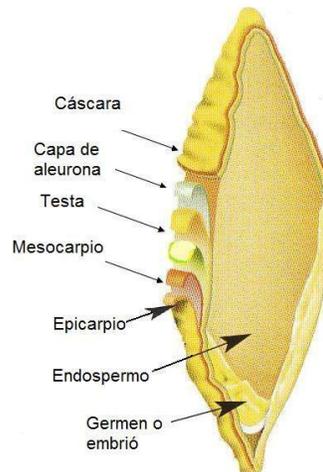


Figura 6. Cariósido de la cebada y sus estructuras

Modificado de: Pamplona, 2004

2.6.3. Composición química del grano

El principal componente de la cebada es el almidón, formado principalmente por 2 componentes amilosa y amilopectina (Tabla 10). La cascara, que supone el 13% del peso del grano contiene el 64% de la fibra total y el 32% de la materia mineral. La celulosa y hemicelulosa son los principales constituyentes de la cascara, y junto con la lignina constituyen la fibra cruda. Los β -glucanos son el principal constituyente de la pared celular del endospermo. El germen de la semilla contiene lípidos en proporción variable, estos lípidos son glicéridos de ácidos grasos, además contienen fosfolípidos. Un 95% de las sustancias minerales está formado por fosfatos y sulfatos de potasio magnesio y calcio y la ceniza es rica en silicio. En cuanto a las vitaminas el contenido de niacina en la cebada es superior al de otros cereales, y en menor cantidad también está presente la tiamina, riboflavina, ácido pantoténico, y piridoxina (Cheftel, 2004).

Se consideran a los cereales con baja calidad proteica, ya que el contenido del aminoácido esencial, lisina, es limitado, por lo que se tienen que complementar con leguminosas y productos de origen animal (Serna, 2001). En la tabla 9 se muestran los aminoácidos esenciales en la cebada.

Tabla 10. Composición química del grano de cebada

| COMPONENTE | % | REF. | COMPONENTE | % | REF. |
|-------------------------------|----------|-----------------------------|---------------------------|---------|-----------------------------|
| Sólidos totales | 85 | Serna, 2001 | Fibra dietética total | 15.4 | Serna, 2001 |
| Almidón | 50-63 | Fastnaught, 2001 | Fibra dietética soluble | 3.9 | Serna, 2001 |
| Otros carbohidratos | 19.6 | Dendy y Dobraszczyk, 2004 | Fibra dietética insoluble | 11.5 | Serna, 2001 |
| Proteína | 7.5-15.6 | Arndt, 2006 | β -glucanos | 5 | Arndt, 2006 |
| Otros compuestos nitrogenados | 3.4 | Astiasaran y Martínez, 2000 | Celulosa | 4.8 | Astiasaran y Martínez, 2000 |
| Lípidos | 1.1-3.1 | Arndt, 2006 | Cenizas | 2.3-5.3 | Cheftel, 2004 |
| Agua | 14.9 | Serna, 2001 | | | |

2.6.4. Beneficios a la salud

La cebada contiene muchos nutrientes, además de FD, antioxidantes como el ácido fítico y lignanos, vitaminas, minerales (calcio, magnesio, potasio, fósforo), esfingolípidos, ácidos grasos insaturados, además de componentes bioactivos que han demostrado tener actividades biológicas, como son la reducción del colesterol total, LDL, glucosa postprandial y los niveles de insulina, además de disminuir el riesgo de cáncer, enfermedades cardiovasculares, obesidad y diabetes (CFW, 2005; Arndt, 2006).

Las enfermedades cardiovasculares han tenido gran impacto tanto en la morbilidad como en la mortalidad de la población americana adulta. La Dirección de Alimentos y Medicamentos de EUA (FDA por sus siglas en inglés) reconoce que ciertas fuentes de fibra soluble pueden reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares basado en sus efectos sobre el colesterol total y lipoproteínas de baja densidad (LDL). En 1997, la FDA afirma que la reducción del riesgo de estas enfermedades se asegura con los β -glucanos de la fibra soluble presente en el grano entero de la avena, salvado de avena y algunas harinas de avena, aunque recientemente también se le

atribuye a la cebada (Cargill, 2007). Al comparar la respuesta del colesterol y triglicéridos de dietas ricas en avena y cebada, la cebada parece ser más efectiva en la reducción de colesterol que la avena, quizá por su alto contenido en β -glucanos, además de que una dieta saludable ayuda a disminuir el colesterol tanto en hombres como en mujeres (Conway y Benall, 2005; CFW, 2005).

La incidencia de Diabetes tipo II está aumentando rápidamente tanto en Estados Unidos como en otras partes del mundo, sin embargo aún no se sabe con certeza si los hábitos alimenticios podrían proporcionar protección contra esta enfermedad. Algunos estudios epidemiológicos prospectivos sugieren que los granos y los productos que tienen cereal con fibra pueden reducir el riesgo de desarrollarla (Cargill, 2007). La cebada puede ayudar a prevenir la resistencia a la insulina o retrasar el ataque de diabetes en individuos que ya tienen resistencia a la insulina (CFW, 2005). La cebada y la avena son dos de las mejores fuentes de fibra dietética soluble, pero la cebada al tener mayor contenido de β -glucanos posee más efectos benéficos que la avena. La cebada, ya sea como grano o extracto, puede servir para reemplazar la grasa en los alimentos, además de ser útil como ingrediente en los menús para controlar la glucosa en plasma (Conway y Benall, 200; CFW, 2005).

Durante la década anterior hubo un incremento dramático en los índices de obesidad en la población americana tanto de niños como adultos. Este incremento se asocio con el aumento en la prevalencia de co-morbilidades que incluyen Diabetes tipo II, hipertensión, enfermedades cardiovasculares, osteoartritis, problemas respiratorios y algunos tipos de cáncer (Cargill, 2007). Con el consumo de fibra soluble hay una regulación de la saciedad, la cual es menor con la ingestión de productos refinados o los bajos en fibra, por lo que estos pueden ser usados como estrategia para la pérdida o mantenimiento de peso, por que los productos de cebada al contener altos niveles de fibra y bajos en grasa parece ser un alimento que promueve la saciedad (Cargill, 2007; CFW, 2005).

3. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

En tiempos antiguos, la cebada era el cereal de mayor consumo en el mundo pero al paso del tiempo ha disminuido, sustituyéndose por el trigo, pasando a ser la cebada un alimento considerado de consumo animal o para la producción de cerveza principalmente. Existe evidencia científica de que las fermentaciones en cereales (arroz, maíz, sorgo, avena y mijo) aumentan su valor nutritivo y digestibilidad, así como reducción considerable de factores antinutrimientales, sin embargo hay pocos reportes sobre la fermentación ácido láctica de cebada.

El estudio anterior de Muñoz, 2008 comprobó que la cepa *Lactobacillus plantarum* 1407 pudo fermentar los extractos de cebada, malta y cebada/malta, así como también soportó bajos pH, por lo cual es importante cuantificar los cambios que pudieron ocurrir sobre los compuestos tales como FD, AF, proteína y lisina libre.

4. JUSTIFICACIÓN

La fermentación ácido láctica es un proceso económico y sencillo que a través de cambios físicos y químicos modifica la funcionalidad de los alimentos, así como también mejora las características sensoriales. Existe una gran variedad de productos fermentados, algunos son hechos de cereales, sin embargo la cebada no ha sido utilizada para la elaboración de estos productos a pesar de ser un alimento benéfico para el hombre por lo que es importante el diversificar las aplicaciones de la cebada mediante la obtención de productos que pudieran ser una alternativa en la alimentación, de tal manera que no solo sea empleado en la producción de cerveza, sino también para la elaboración de otros productos, aprovechando su contenido en FD, la cual se ha asociado a la prevención y tratamiento de algunas enfermedades crónico-degenerativas, además de favorecer el desarrollo de la microbiota intestinal, por lo cual es considerado un componente importante para la salud del huésped. Otro factor importante es que con la disminución de factores antinutrimientales por la fermentación existe una mejor absorción de proteínas, aminoácidos y minerales.

5. OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto de la fermentación ácido láctica de harina integral de cebada y malta por *Lactobacillus plantarum* sobre el contenido de fibra dietética, fitatos, proteína y lisina libre.

Objetivo específico

Cuantificar fibra dietética, fitatos, proteína y lisina libre en las harinas integrales de cebada, malta y cebada/malta.

Cuantificar y determinar el efecto de la fermentación ácido láctica a 28 y 35°C sobre el contenido de fibra dietética, fitatos, proteína y lisina libre.

6. DISEÑO METODOLOGICO

Para la realización del presente trabajo de investigación se utilizaron muestras de cinéticas de fermentación ácido láctica de un estudio previo, dichas muestras fueron obtenidas a partir del grano de cebada esmeralda (*Hordeum distichum*) de dos hileras proporcionado por el INIFAP (Instituto Nacional de Investigadores Forestales, Agrícolas y Pecuarias) del estado de Hidalgo cosechada en el municipio de Tolcayuca Hidalgo. La cebada fue acondicionada para una molienda seca, obteniendo harina blanca de cebada y sémola. Para la obtención de harina y sémola de malta, el grano de cebada se germinó para obtener malta, y posteriormente se sometió a molienda seca. Para la formulación de los extractos complejos se emplearon harina integral de cebada, malta y cebada/malta 1:1. Las harinas integrales se solubilizaron en una proporción de 1:8, y se esterilizaron. Posteriormente se inocularon con *Lactobacillus plantarum* 1407 (cepa proporcionada por el laboratorio de microbiología del Área Académica de Química de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo) a una concentración 10^5 UFC/mL, las cinéticas de fermentación fueron por 72 h (se tomaron muestras a las 0, 6, 12, 24, 48 y 72 h) a dos temperaturas (28 y 35°C). De cada cinética de fermentación se evaluaron ufc/mL, % acidez como ácido láctico y pH (Muñoz, 2008).

Las muestras elaboradas por Muñoz (2008), fueron conservadas por ultracongelación (-70°C), posteriormente fueron descongeladas y homogeneizadas para evaluar AF, FD, y liofilizadas para determinar proteína y lisina libre. En la figura 7 se muestra el diseño para cada una de los parámetros evaluados.

El equipo que se utilizó en las determinaciones fue balanza analítica Explorer Pro mod. EP213C, homogeneizador Scientific Inc Pro 200, baño de agua con agitación horizontal Scorpion Scientific mod. 147280, horno de aire Scorpion Scientific, horno Oven, digestor Kjeldatherm, Gerhardt, mufla Thermolyne Furnace 1500, Thermomixer compact mod. 22331, microcentrifuga Hettich Zentrifugen mod. 22331, termociclador Lab-Techne Genius, espectrofotometro lamda fluoro 320 FLX 800L,

incubadora con agitación Lab. Companion SI-600, centrifuga Hettich Zentrifugen mod. D78532, y liofilizadora Labconco corporation mod. 050435540^a.

En cuanto a los reactivos utilizados fueron α -amilasa termoestable SIGMA Cod. A 3306, amiloglucosidasa SIGMA Cod. A 9913, proteasa SIGMA Cod. P 3910, celita Adventurer™, Ghaus AR1140, biperidina SIGMA, ácido tioglicólico SIGMA y orange G SIGMA Cod. O3756-256. A continuación se describen las técnicas para la evaluación de los diferentes parámetros.

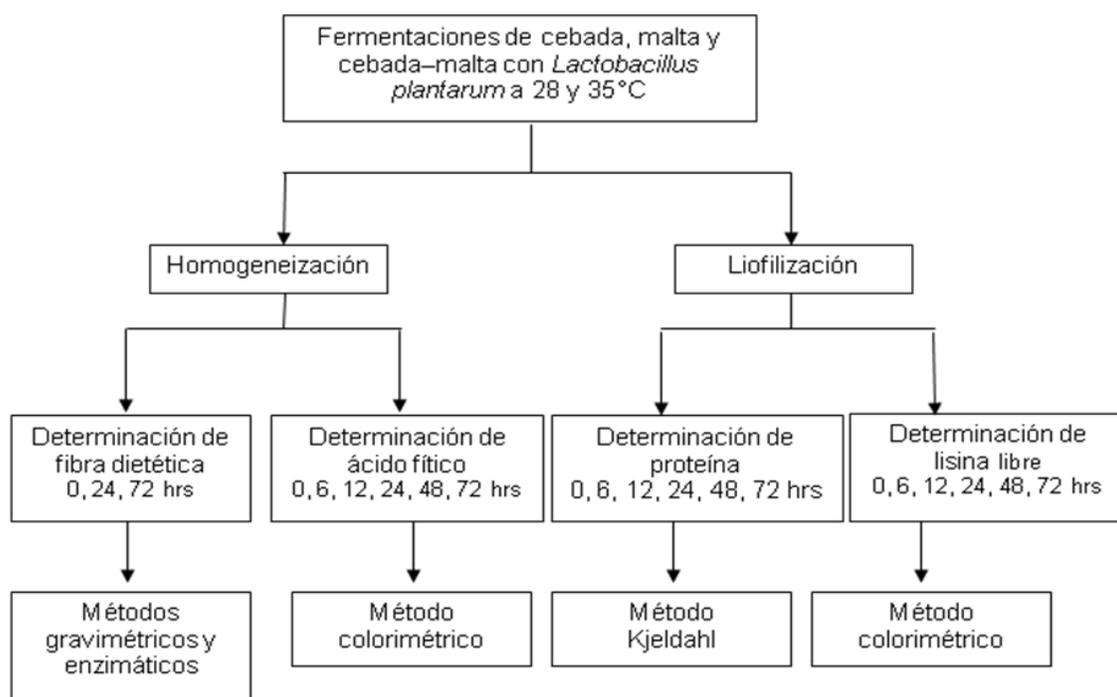


Figura 7. Diseño experimental de la determinación de FD, AF, proteína y lisina

6.1. Preparación de muestras

Las muestras a tratar fueron homogeneizadas en recipientes de plástico de 60 mL para la determinación de FD y ácido fítico. Para el análisis de proteína y lisina libre los fermentados fueron liofilizados a una temperatura de -50°C y un vacío de 0.133 mBar, la muestra estaba contenida en vasos de plástico de 10 mL los cuales se colocaron en el interior de una jarra de vidrio.

6.2. Determinación de fibra dietética total

Para la determinación de Fibra Dietética Total (FDT) en las muestras de fermentación se utilizó una combinación de los métodos gravimétricos y enzimáticos empleando un kit comercial de ensayo de FDT (TDF-100A, SIGMA). Este método consistió en tres etapas: digestión, filtración y determinación de proteína y ceniza. En la primer etapa las muestras lavadas y desengrasas son gelatinizadas y posteriormente digeridas enzimáticamente para remover la proteína y el almidón. En la segunda etapa la Fibra Dietética Soluble es precipitada con la adición de etanol, el residuo total se filtra y lava con etanol y acetona. Se determina proteína y ceniza, la FDT es el peso del residuo menos el peso de la proteína y ceniza.

En la primera etapa se pesaron 4 muestras de $1 \text{ g} \pm 4 \text{ mg}$ de cada tiempo de fermentación en matraces Erlenmeyer de 250 mL, después se adicionaron a cada matraz 50 mL de solución amortiguadora de fosfatos 0.08 M, pH 6.0, y 0.1 mL de α -amilasa termoestable para gelatinizar la muestra. Se cubrieron los matraces con papel aluminio y se colocaron en un baño de agua con agitación horizontal a 95°C por 15 min con agitación continua, una vez transcurrido el tiempo se dejaron enfriar a temperatura ambiente (aprox. 15 min). Posteriormente con un potenciómetro, previamente calibrado, se ajustó el pH a 7.5 ± 0.2 con la adición de NaOH 0.275 N (10 mL aprox.). En cada matraz se colocaron 0.1 mL (5 mg de proteasa) de una solución de proteasa en amortiguador de fosfatos (50 mg/mL), con la cual se digirió enzimáticamente la proteína, después se cubrió con papel aluminio y se puso en un baño de agua a 60°C por 30 minutos con agitación continua, se dejaron enfriar a temperatura ambiente para ajustar el pH a 4.0 y 4.6 agregándole HCl 0.325 M (10 mL aprox.) y finalmente se ajusta con NaOH. Se añadieron 0.1 mL de amiloglucosidasa para hidrolizar el almidón, para después cubrir el matraz con papel aluminio y colocarlo nuevamente en un baño de agua a 60°C por 30 min con agitación continua. Para finalizar la primera etapa se agregaron 300 mL de etanol al 95% a cada matraz y se dejaron las soluciones durante toda la noche a temperatura ambiente para permitir la precipitación completa.

En la segunda fase que fue la de filtración, se emplearon crisoles Gooch No. 2 (4.5-5 μm de porosidad, cap. 30 mL), los cuales fueron previamente secados en un horno de aire a 105°C hasta peso constante, se colocaron 0.5 g de celita a cada uno. Una vez teniendo la celita en el crisol se metieron en el horno a 105°C por 1 hr y se enfriaron en el desecador por 15 min para ser nuevamente pesados y proceder con la filtración en donde se mojó y redistribuyó la cama de celita en cada crisol utilizando unas gotas de etanol al 78%. Se aplicó una succión suave y constante al momento que se transfirió cuantitativamente el precipitado y suspensión de cada matraz a su respectivo crisol. Después se lavó el residuo con 60 mL de etanol al 78%, 20 mL de etanol al 95% y 20 mL de acetona. Posteriormente se secaron los crisoles que contenían los residuos por 12 h en el horno de aire a 105°C; se pesaron y a 2 muestras se les determinó proteína y a 2 ceniza.

Se analizó la proteína por el método de Kjeldahl de los residuos por el contenido de nitrógeno (N) tras degradar la materia orgánica con ácido sulfúrico (Figura 8). El residuo fue pesado y colocado en plástico adherible marca egapack para ser sometido a una digestión con 1 tableta kjeltabls (Gerhardt), 2 mL de agua destilada y 15 mL de ácido sulfúrico. El programa de digestión fue el siguiente: 230°C por 30 min, 260°C – 5 min, 300°C – 10 min, 400°C – 20 min y 405°C – 20 a 30 min., con el ácido sulfúrico se formó dióxido de carbono, agua y se liberó el nitrógeno en forma de amoníaco, estos gases fueron neutralizados. Después las muestras se colocan en el destilador en donde el amoníaco se liberó al agregar NaOH y colectándose en ácido bórico 3%. Posteriormente se efectuó la titulación con HCl 0.01 N. El factor de conversión utilizando fue 5.85 para obtener el contenido de proteína del residuo (Kirk *et al.*, 2002).



Figura 8. Reacción para la determinación de nitrógeno total por el método de Kjeldahl (Pearson, 1976).

Para analizar ceniza se basó en la técnica reportada en Hart y Fisher (1997) primero se pesaron los crisoles con el residuo, posteriormente fueron carbonizados y después incinerados en la mufla a 525°C por 5 h. Transcurrido ese tiempo se dejaron enfriar dentro de la mufla ya apagada y fueron colocadas en el desecador hasta alcanzar la temperatura ambiente para finalmente ser pesados.

Tanto para el análisis de proteína como para el de ceniza se utilizaron 2 muestras, obteniendo la determinación de fibra dietética total por duplicado, esto por razones de tiempo y cantidad de muestra.

Con la siguiente fórmula se determinó el contenido de fibra dietética total:

Peso del residuo= $W_2 - W_1$

Peso de la ceniza= $W_3 - W_1$

$$B = R_{blanco} - P_{blanco} - A_{blanco}$$

$$\% FDT = [(R_{residuo} - P_{residuo} - A_{residuo} - B) / SW] * 100$$

Donde:

FDT = Fibra dietética total

R = Peso promedio del residuo (mg)

P = Peso promedio de la proteína (mg)

A = Peso promedio de la ceniza (mg)

SW= Peso promedio de la muestra (mg)

6.2. Determinación de ácido fítico

Para la determinación de AF se utilizó el método colorimétrico por espectrofotometría, reportado por Shi *et al.* (2003) con algunas modificaciones. En este método se realizó una extracción en condiciones ácidas (HCl), posteriormente el AF es precipitado en forma de un complejo fitato-hierro. El hierro remanente es cuantificado colorimétricamente por la formación de un compuesto colorido, al reaccionar éste con bipyridina. El fitato se determina en forma indirecta. A continuación se describe el procedimiento.

Se pesaron 60 mg de cada muestra en tubos eppendorf de 1.5 mL, y se adicionó 1 mL de HCl 0.4 N. A continuación los tubos se agitaron a 1200 rpm por 3.5 h a temperatura ambiente, esto para homogeneizar evitando que en algún momento se precipitara el fermentado, después los tubos fueron centrifugados a 3,900 g por 15 min a temperatura ambiente, se colocaron 35 μ L del sobrenadante en tubos eppendorf de 0.6 mL mas 35 μ L de agua destilada y 140 μ L de sulfato amónico de hierro (II) $[\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$ a 0.02% (preparado en HCl 0.2 N). Los tubos fueron colocados en un termociclador, con una programación de 3 ciclos, el primero a 99°C por 30 min, el segundo a 4°C por 15 min y por último a 25°C por 20 min. Posteriormente las muestras se centrifugaron a 3,900 g por 30 min. Se colocaron 80 μ L del sobrenadante de cada muestra y 120 μ L de una solución de 2,2 bipyridina 1%/ácido tioglicólico $[(\text{C}_5\text{H}_4\text{N})_2/\text{HSCH}_2\text{COOH}]$ en una microplaca. Por último, se realizó la lectura de absorbencia a 519 nm en el lector de microplacas. Las determinaciones se hicieron por triplicado

Se realizó una curva patrón a diferentes concentraciones de AF y se sometieron al mismo tratamiento que las muestras (tabla 11), obteniendo la ecuación de regresión lineal con la cual se calcularon las concentraciones de AF de las muestras problema (figura 9).

Tabla 11. Preparación de concentraciones de ácido fítico para curva patrón.

| mg/mL | Solución Stock (1 mg/mL) | HCl 0.4 N (mL) |
|-------|-----------------------------|-------------------|
| 0 | 0 | 1.0 |
| 0.1 | 0.1 | 0.9 |
| 0.2 | 0.2 | 0.8 |
| 0.4 | 0.4 | 0.6 |
| 0.6 | 0.6 | 0.4 |

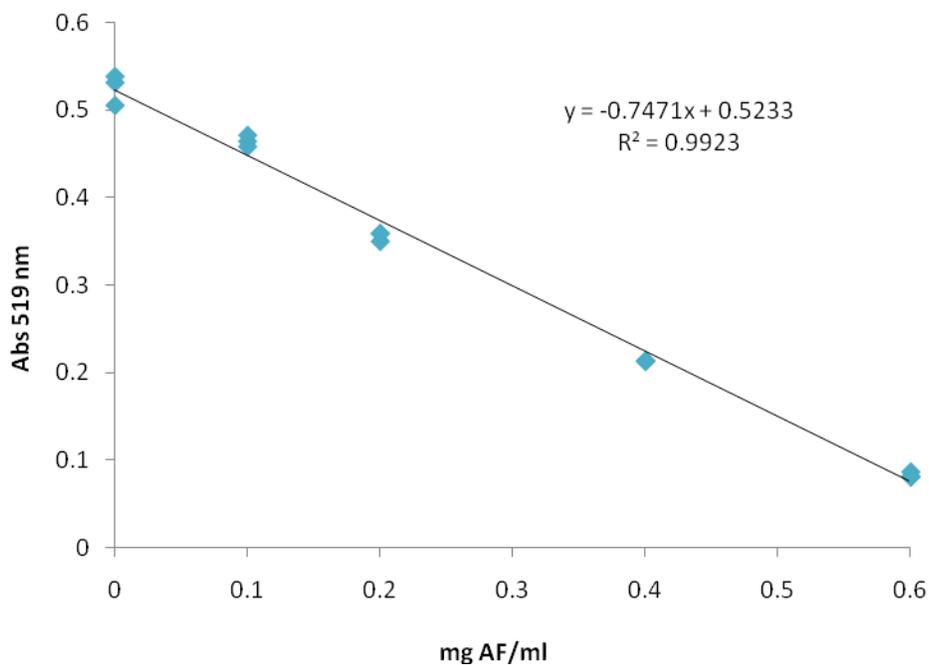


Figura 9. Curva patrón utilizada para determinación de ácido fítico

6.3. Determinación de proteína

Se determinó proteína por el método de Kjeldahl anteriormente descrito, realizándose por duplicado por cantidad de muestra.

6.4. Determinación de lisina libre

Se realizó por el método descrito por Hurrell *et al.* (1979). Esta técnica se basa en la cantidad de colorante ligado electrovalentemente con los grupos amino básicos de arginina, histidina y lisina, precipitándose la proteína como un complejo pigmento-proteína. Para lo cual se realizan 2 mediciones, A y B. En la medición A, los tres aminoácidos se unen al colorante y en la medición B sólo arginina e histidina debido a que la adición de anhídrido propiónico, en esta última, inhibe la reacción del colorante con lisina, la diferencia entre ambas lecturas (A - B) nos indica el contenido de lisina libre.

Medición A

Para la medición A se pesó la muestra, previamente liofilizada, en base al contenido de proteína, se calculó la cantidad en peso de muestra que tuviera aproximadamente 15 mg de lisina, arginina e histidina.

Posteriormente se colocó la muestra en un tubo cónico de 15 mL con tapón de rosca con 2 mL de la solución colorante Orange G y 200 μ L de solución saturada de ácido acético al 16.4%; se agitó por 1 hr y 15 minutos. A continuación se tomó 1 mL el cual se centrifugó a 5000 rpm por 10 minutos, del sobrenadante obtenido se tomó una alícuota de 10 μ L y se adicionó 990 μ L de buffer, esta se homogeneizó manualmente. Finalmente, se colocaron 200 μ L de esta en una microplaca para realizar la lectura en el espectrofotómetro a 475 nm.

Medición B

Para la medición B se pesó una muestra en base al porcentaje de proteína, de tal manera que tuviera aprox. 15 mg de arginina e histidina. Posteriormente se colocó la muestra en un tubo de 15 mL con tapón de rosca con 20 μ L de anhídrido propiónico y 200 μ L de solución saturada de acetato de sodio al 16.4% y se agitó por 15 min,

después se le agregaron 2 mL del colorante Orange G y se agitó por una hora. Posteriormente se tomó 1 mL de la mezcla y se centrifugó durante 10 minutos a 5,000 rpm. Finalmente se tomó 10 μ L del filtrado con 990 μ l de amortiguador fosfato, y se leyó en el espectrofotómetro a 475 nm.

Las lecturas se hicieron por triplicado y al obtener las lecturas correspondientes de A y B se hizo el cálculo de la concentración de la siguiente manera:

$$\text{Concentración} = a + b(A)$$

Donde:

a= Intercepto

b= Pendiente

A= Absorbencia

Posteriormente se calculó la concentración tanto de A como B, para ello se realiza una resta entre la concentración inicial del colorante (3.89 mmol/L) y la concentración obtenida mediante la ecuación anterior. Después se realiza la conversión de mM/L a mM/16 g de N de la siguiente manera:

$$g \text{ de Lis} / 16 g \text{ de N} = \frac{[L] * VO * 1460}{pm * \% P}$$

Donde:

[L]= Concentración de lisina en mM/L

VO= Volumen de Orange G que se utilizó durante la determinación.

pm= Peso de la muestra en g.

% P = Porcentaje de proteína de la muestra.

Una vez realizado los cálculos anteriores el contenido de lisina se obtiene mediante la diferencia de ambas lecturas.

Contenido de lisina en g de lisina/16g de N= lectura de A - lectura de B

Se realizó una curva patrón con la solución colorante de Orange G a 4 concentraciones (1, 2, 3 y 3.89 mmol/L) (tabla 12), por triplicado y se sometieron al mismo tratamiento que las muestras, obteniendo la ecuación de regresión lineal con la cual se calcularon las concentraciones de lisina de las muestras tratadas (figura 10).

Tabla 12. Preparación de concentraciones de lisina para curva patrón.

| Concentración de Orange G mmol/L | Orange G (mL) | Buffer (mL) |
|-------------------------------------|------------------|----------------|
| 0 | 0 | 5 |
| 1 | 1.28 | 3.72 |
| 2 | 2.57 | 2.43 |
| 3 | 3.85 | 1.15 |
| 3.89 | 5 | 0 |

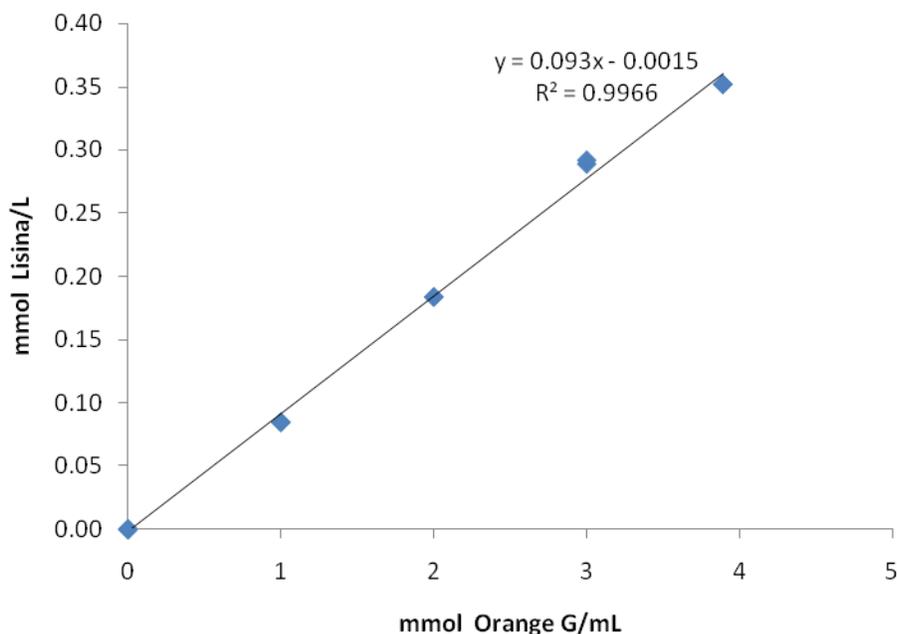


Figura 10. Curva patrón utilizada para la determinación de lisina libre

Análisis estadístico

El diseño que se llevó a cabo para el análisis de datos de las muestras analizadas, fue un factorial de 2x3, con tres factores (temperatura, tipo de medio y tiempo) con dos niveles de temperatura, 3 niveles de medios base de fermentación y 3 tiempos para FD y 6 para ácido fítico, proteína y lisina. Los datos que se obtuvieron de las determinaciones de fibra dietética y proteína fueron por duplicado, mientras que para fitatos, y lisina fueron por triplicado. Se aplicó una prueba de análisis de varianza (ANOVA) tanto para un medio de fermentación a los diferentes tiempos, así como entre los medios para un mismo tiempo, también se aplicó comparación de medias por el método de Duncan a un nivel de significación de $\alpha=0.05$. Para el análisis se empleó el paquete estadístico SPSS ver 15.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. Evaluación del contenido de fibra dietética total

Se determinó el contenido de FDT en los sustratos de harinas integrales sin fermentación, obteniéndose un mayor contenido en cebada, seguido de cebada/malta con diferencia estadísticamente significativa con respecto a malta ($P < 0.05$) (11.97, 11.65 y 10.83 mg/g, respectivamente) (Figura 11, anexo 1), éste menor contenido de FD en harina de malta es debido a la acción de hidrolasas, que durante el malteado son sintetizadas y secretadas, degradando la capa de aleurona del endospermo y con esto una reducción de FD (Centeno *et al.*, 2001; Ramos *et al.*, 1998).

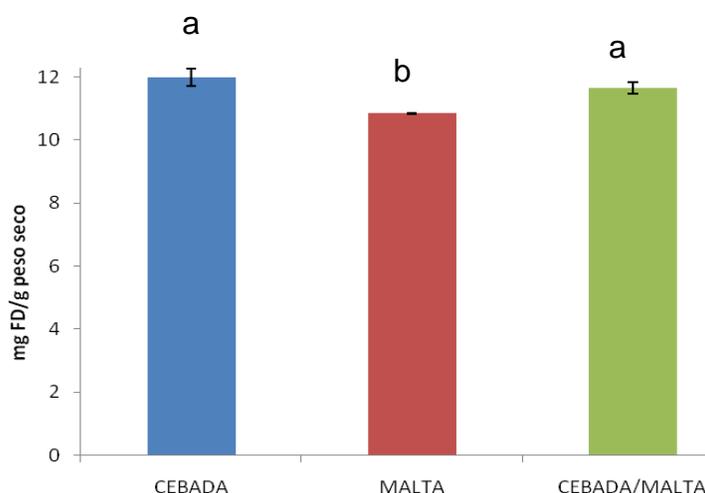


Figura 11. Determinación de fibra dietética en harinas integrales de cebada, malta y cebada/malta (la asignación de la misma letra sobre las barras y en las medias de la tabla indican que no hay diferencia estadísticamente significativa).

En el caso de las cinéticas de fermentación, la mayor producción de FDT se observó a 28°C en cebada y cebada/malta a 72 h (14.08 y 14.30 mg/g respectivamente), con diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$), con respecto a malta en el que fue a las 24 h y posteriormente se mantuvo sin cambios significativos ($P > 0.05$)

(Figura 12a, anexo 2 tabla 1). A 35°C se observa una diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$) a partir de las 24 h en todos los sustratos para después mantenerse constantes solo en cebada y malta, presentando mayor aumento en cebada (11.98 mg/g) (Figura 12b, anexo 2 tabla 1). No hubo diferencia estadísticamente significativa ($P > 0.05$) entre los fermentados a 28°C y a 35°C los fermentados que tuvieron mayor contenido de FD fue cebada y cebada/malta a 0 h ($P < 0.05$), sin diferencia significativa a las 24 h y a 72 h hubo mayor producción en cebada seguido de malta ($P < 0.05$).

Estudios recientes han reportado que ciertas cepas de BAL (*Lactobacillus acidophilus*) aumentan el contenido de FDT en cebada y avena debido a la formación de exopolisacáridos (EPS) con estructura de β -glucano, y que esta producción de EPS esta relacionada con la temperatura y fase de crecimiento, así como la composición del medio y pH (Lambo *et al.*, 2005; Zamudio y Karin, 2005; Farnworth *et al.*, 2007; Aponte *et al.*, 2008; Bergmaier *et al.*, 2003). Con respecto a la temperatura, al aumentar ésta disminuye la producción de EPS, esto debido a que el gen responsable de su producción se encuentra localizado a nivel plasmídico, mismo que se pierde al incubar las cepas a 40°C (Wilches, 2005). Este efecto se pudo observar en las muestras analizadas, dado que la producción de FDT fue menor a 35°C. También se observó que la mayor producción de EPS se da en la fase exponencial de crecimiento como ha sido reportado (Zamudio y Karin, 2005). Un estudio sobre cepas de *Lactobacillus rhamnosus* reportó su capacidad de producir EPS en un periodo de incubación de 7 h, dependiente de la fase de crecimiento (Bergmaier *et al.*, 2003). Como fue en el trabajo previo de Muñoz (2008) donde se estudio la curva de crecimiento del microorganismo (Ver Anexo 3), en donde a 28°C se alcanza la fase estacionaria a 24 h y después se mantuvo constante, en lo que respecta a los 35°C se dio a las 12 h y posteriormente se conservó constante, lo cual coincide con la producción de FD. Además también es importante saber que una especie es capaz de producir más de un EPS, y que esto depende de las condiciones de fermentación del cultivo. En cuanto al pH, el valor óptimo en el cual se ha reportado una mayor producción es entre 6.2-5.8 (Zamudio y Karin, 2005), lo

cual concuerda con la fase de crecimiento y la producción de EPS como se puede observar en el estudio previo de Muñoz (2008) anexo 4 (Gráfica de pH).

(a)

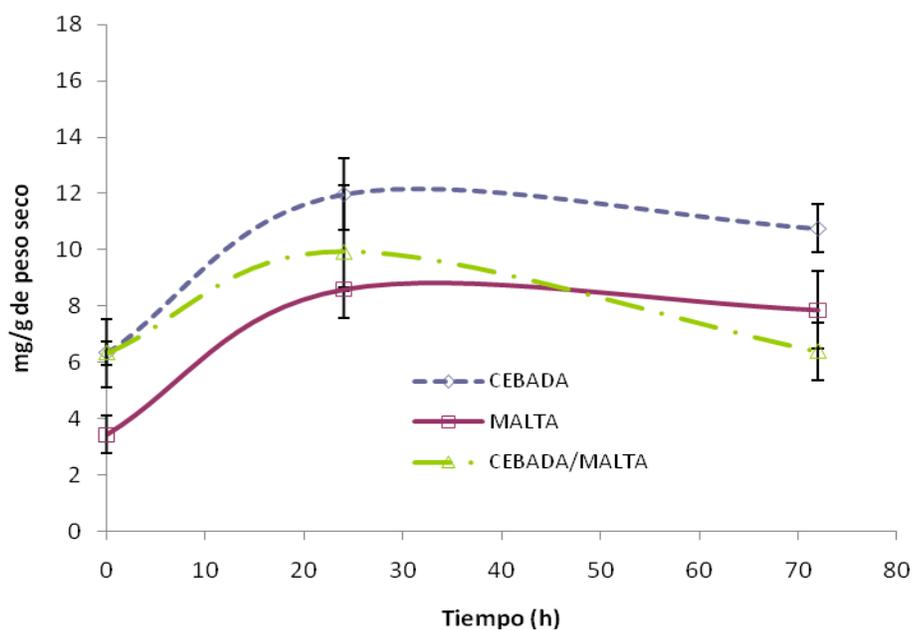
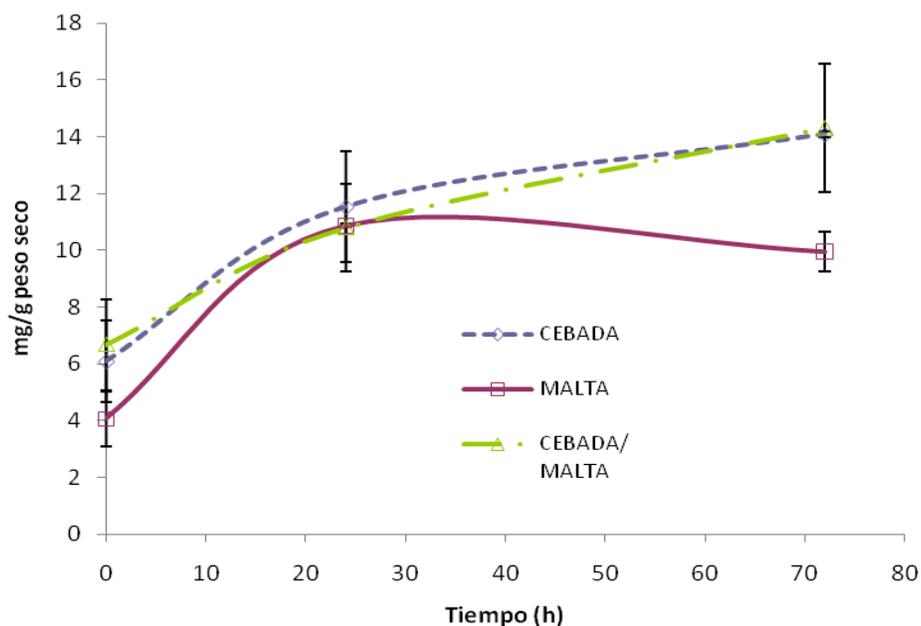


Figura 12. Efecto sobre el contenido de fibra dietética durante la fermentación por *Lact. plantarum* 1407 en cebada, malta y cebada/malta a (a) 28°C y (b) 35°C.

7.2. Evaluación del contenido de ácido fítico

Se determinó el contenido de AF en las harinas integrales sin fermentación, y el mayor contenido se obtuvo en el fermentado de cebada/malta (0.44 mg AF/g) con diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$), y el menor lo presentó el fermentado a base de malta (0.40 mg AF/g) (Figura 13, anexo 1) esto como resultado del proceso de malteado, como fue reportado por Centeno *et al.* (2001) quienes indican que las semillas no germinadas tienen poca actividad de fitasa, mientras que durante la germinación esta actividad incrementa disminuyendo el fitato. En el estudio que realizaron la germinación causó un incremento de fitasa y fosfatasa ácida en cebada, y una reducción en fosfato fítico (0.19 – 0.08%). Otras investigaciones sugieren que las semillas presentan tanto actividad fitasa constitutiva, como enzimas fitasa que son sintetizadas durante la germinación, además de que pueden provenir de microorganismos (Martínez *et al.*, 2002). Por lo que en semillas germinadas se hidroliza el fitato al mismo tiempo que se incrementa la actividad de la fitasa (Sotelo *et al.*, 2002).

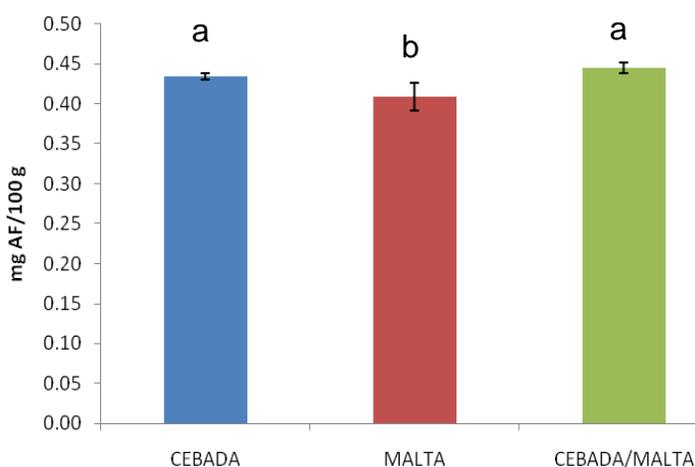


Figura 13. Determinación de ácido fítico en harinas integrales de cebada, malta y cebada/malta (la asignación de la misma letra sobre las barras indican que no hay diferencia estadísticamente significativa).

El mayor contenido de AF (28°C) a las 0 h lo presentó el fermentado de cebada y fue en el que se observó el mayor descenso a las 72 h (44%), mientras que malta y cebada/malta permanecieron constantes con respecto a su contenido a las 0 h (Figura 14a, anexo 2 tabla 2). En el caso de malta se observa una disminución a las 12 h y un aumento a las 48 h, este evento no tiene antecedentes dado que no existen reportes de una síntesis de fitato por el microorganismo o formación de otros compuestos que puedan quelar el hierro. En las cinéticas de fermentación a 35°C presentaron la misma tendencia que las de 28°C, teniendo inicialmente mayor contenido la cebada con respecto a malta y cebada/malta. La que mostró mayor disminución fue la cebada a 72 h siendo mayor la disminución que a 28°C (59%), con diferencia estadísticamente significativa a partir de la 6 h ($P < 0.05$) en ambas temperaturas, los otros sustratos se mantuvieron constantes (Figura 14b, anexo 2 tabla 2).

El contenido de AF en todos los sustratos fermentados presentaron una disminución aproximadamente de la mitad con respecto a las harinas integrales, lo cual sugiere un efecto del tratamiento de remojo y esterilización que sufrieron antes de ser fermentados (Muñoz, 2008). Como fue citado por Serrano y Goñi (2004) quienes reportaron que la cocción y el remojo disminuyen los componentes antinutrimientales como el AF y taninos en frijol negro y cereales, con lo que mejora la biodisponibilidad de minerales (Pineiro, 2008). Así como también Figuerola *et al.* (2008) reportaron que el remojo y la cocción reducen el contenido de AF en frijol en un 44.8%.

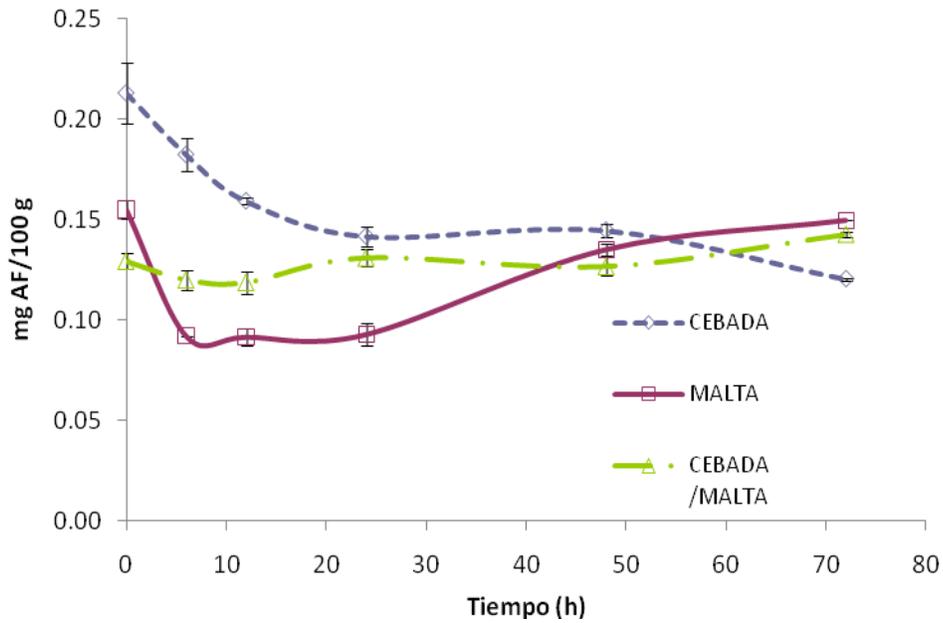
Hammes *et al.* (2005) reportaron que la actividad de la fitasa endógena se relaciona con el pH, teniendo un pH óptimo de 4-5.6 y una actividad fitasa adicional a pH alcalino (Martínez *et al.*, 2002), por lo tanto la fermentación genera las condiciones óptimas de pH para la degradación de fitato (Sanni *et al.*, 1999). Como fue en el caso de nuestro estudio ya que en resultados previos obtenidos por Muñoz (2008) de las fermentaciones analizadas (ver anexo 4), el pH más alto lo obtuvo la cebada en ambas temperaturas, cuyo pH está dentro del rango óptimo para la degradación de fitato, por lo cual tras la fermentación disminuyeron los fitatos, provocando

posiblemente una liberación de minerales, mismos que utilizó *Lactobacillus plantarum* para su crecimiento, aunque este evento solo se observó en la fermentación de cebada en ambas temperaturas.

Otro factor importante en la actividad de la fitasa es la temperatura, en semillas de *Phaseolus mungo* fermentadas a 25°C los fitatos se redujeron 18%, pero se incrementó a 43% cuando las semillas fueron fermentadas a 35°C, por lo que se ha reportado que la actividad óptima de dicha fitasa varía entre 35 y 45°C (Dávila *et al.*, 2003), lo que explica que en nuestros resultados la mayor reducción de fitato fue a 35°C. Por otro lado, López *et al.* (2000) reportó una disminución del 30% de AF a 30°C en solo 2 h, con cepas *Lactobacillus plantarum* que inocularon en harina de trigo debido a la producción de fitasas. Por su parte, Manju *et al.* (1992) reportaron que la esterilización (autoclave) y la fermentación de rabadi (harina de trigo con suero) disminuyen significativamente los niveles de AF a 40°C, lo que sustenta la probable disminución de AF debido a la esterilización y fermentación de las muestras en estudio.

Se ha reportado que durante el almacenamiento, fermentación, germinación y procesamiento de cereales y vegetales (ej. remojo) se puede remover entre un 50 y 80% del fitato endógeno, el cual es hidrolizado enzimáticamente, ya que aumenta la actividad de las fitasas a fosfatos *myo*-inositol y fosfato (Deshpande, 2002; Martínez *et al.*, 2002), como fue reportado por Sripriya *et al.* (1997), quienes evaluaron mijo germinado y posteriormente fermentado, obteniendo el mayor cambio durante la fermentación comparado con la germinación, el AF disminuyó hasta 60% con un incremento en la disponibilidad de minerales del 47%, lo cual concuerda con los resultados obtenidos ya que el AF disminuyó un 80% aprox.

(a)



(b)

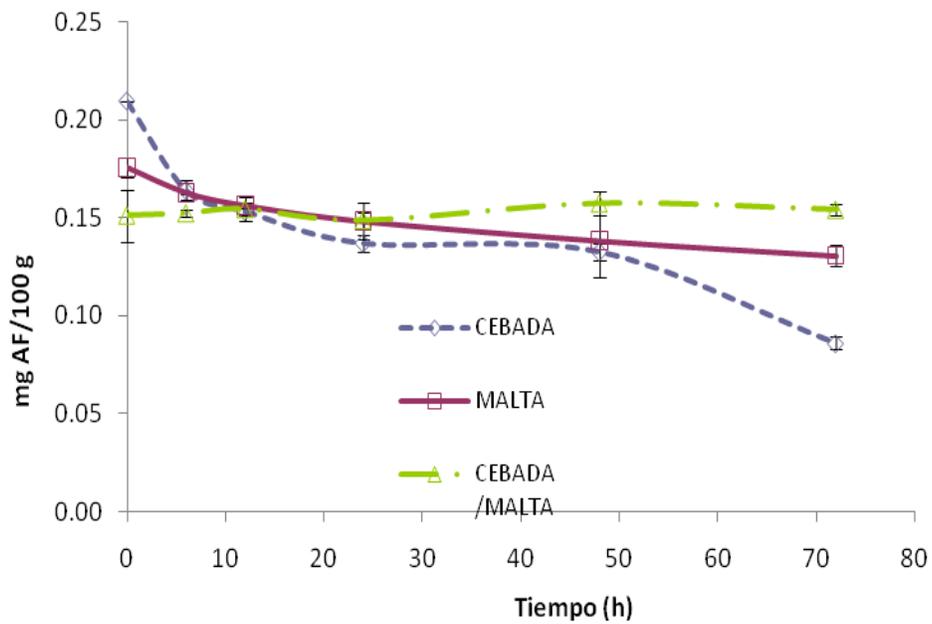


Figura 14. Efecto sobre el contenido de ácido fóico durante la fermentación por *Lact. plantarum* 1407 en cebada, malta y cebada/malta a (a) 28°C y (b) 35°C.

7.3. Evaluación del contenido de Proteína

Se determinó el contenido de proteína en las harinas integrales sin fermentación, presentando el mayor contenido cebada ($P < 0.05$), seguido de cebada/malta y malta (12.37, 8.87 y 8.73%, respectivamente) (Figura 15, anexo 1). El bajo contenido en malta se ha reportado como resultado de la degradación de proteínas por hidrolasas durante el malteado (Ramos *et al.*, 1998).

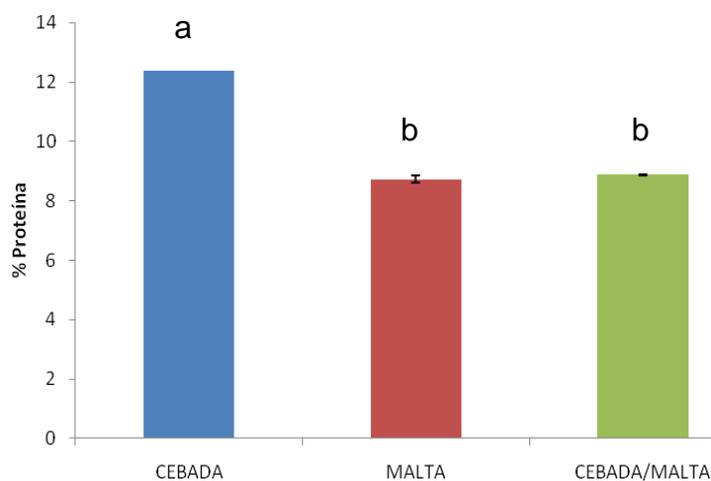
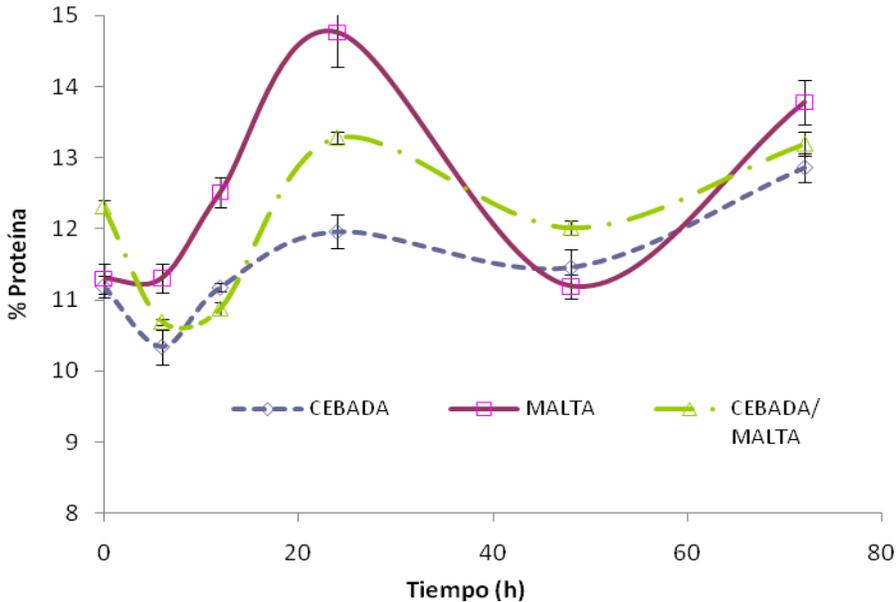


Figura 15. Determinación de proteína en harinas integrales de cebada, malta y cebada/malta (la asignación de la misma letra sobre las barras indican que no hay diferencia estadísticamente significativa).

El porcentaje de proteína a 28°C presentó una disminución en las primeras 6 h en todos los sustratos, posteriormente aumentó hasta alcanzar su punto máximo a las 24 h en malta y cebada/malta, en cebada fue a las 72 h, con diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$), sin embargo el mayor aumento se presentó en malta (11.29-14.76%) (Figura 16a, anexo 2 tabla 3). El contenido de proteína en las cinéticas a 35°C obtuvieron su mayor porcentaje a las 72 h en malta (10.57-14.37%), con diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$) a partir de las 24 h, en todos los sustratos, al igual que las cinéticas a 28°C se presentó una disminución en las primeras 6 h, aunque en cebada tuvo un ligero aumento a las 12 h y

(a)



(b)

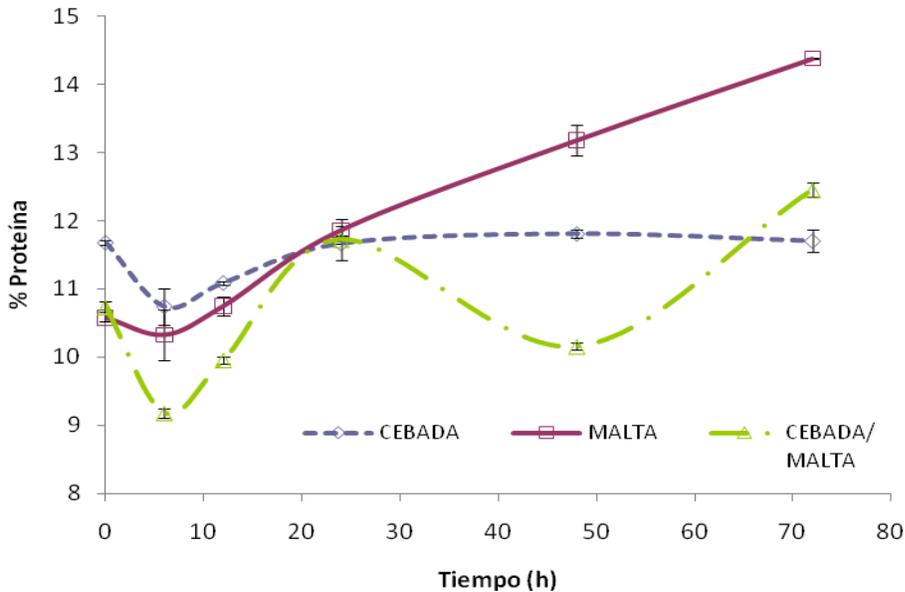


Figura 16. Efecto sobre el contenido de proteína durante la fermentación por *Lact. plantarum* 1407 en cebada, malta y cebada/malta a (a) 28°C y (a) 35°C.

posteriormente se mantuvo constante, en cuanto a cebada/malta su mayor aumento fue a las 72 h aunque en menor proporción que la malta (Figura 16b, anexo 2 tabla 3). El extracto que tuvo mayor producción de proteína a las 72 h fue malta en ambas temperaturas.

Chavan *et al.* (1988) reportaron un valor máximo de proteína después de 24 h de fermentación de sorgo a 25°C, lo cual coincide con las cinéticas de fermentación a 28°C principalmente malta y cebada/malta. Por otro lado, Sanni *et al.* (1999) reportaron un incremento de proteína durante la fermentación con *Saccharomyces cerevisiae* y *Lactobacillus plantarum* a 30°C de un alimento para ablactación a base de harina de cereal y soya fermentado. También Elyas *et al.* (2002) reportaron un incremento en el contenido de proteína de mijo perla fermentado de manera natural a 30°C por 36 h. Los autores de dichos estudios coinciden en que el incremento puede ser atribuido al desdoblamiento de nutrientes de los sustratos por los microorganismos, o por la síntesis microbiana de proteínas a partir de metabolitos intermediarios durante el crecimiento. La disminución de proteína a las 48 h a 28°C podría ser para el mantenimiento del microorganismo en la fase estacionaria. En lo que respecta al incremento de proteína por BAL no se han definido parámetros para un mayor aumento, porque aunque hay reportes de aumento de proteína a los 30°C no se encontraron referencias de su comportamiento a 35°C, lo que si es notable es que entre mayor sea la temperatura de fermentación mas tiempo se tarda en incrementar el contenido de proteína.

7.4. Evaluación del contenido de Lisina libre

Se determinó el contenido de lisina libre en las harinas integrales sin fermentación, el mayor contenido de lisina lo obtuvo la cebada/malta, seguido de cebada y malta (11.66, 10.37 y 8.74 g lisina/16 g N, respectivamente) con diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$) entre ellas (Figura 17, anexo 1), este comportamiento se debe a la misma causa de lo anteriormente reportado en proteína, es decir los aminoácidos liberados durante el malteado son utilizados por el embrión para nutrirse (Serna, 2001).

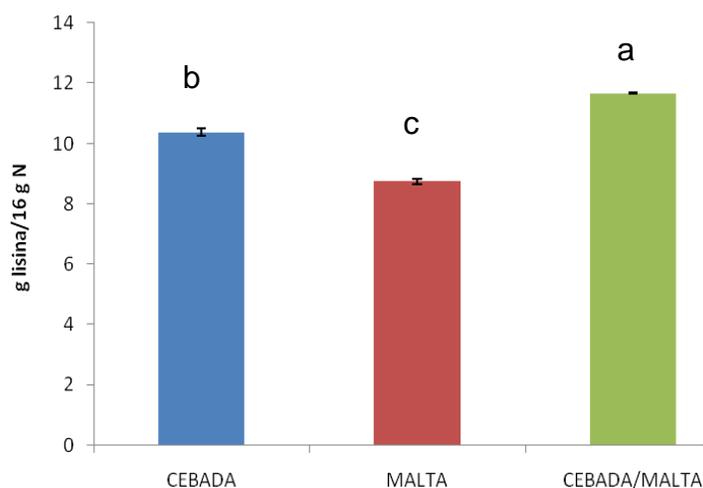
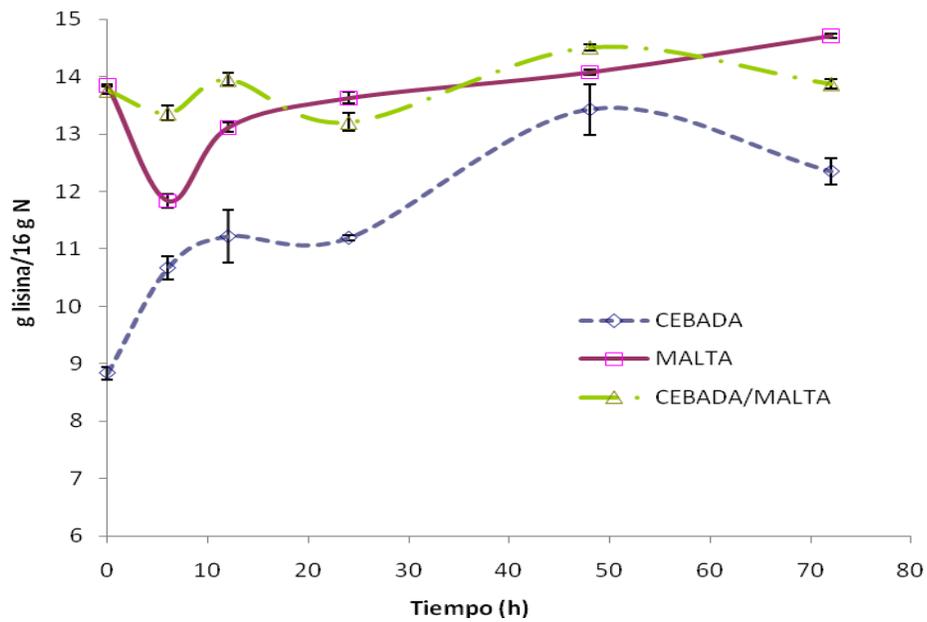


Figura 17. Determinación de lisina en harinas integrales de cebada, malta y cebada/malta (la asignación de diferente letra sobre las barras indican que hay diferencia estadísticamente significativa).

El contenido de lisina libre en las cinéticas de 28°C presentó su mayor aumento en malta a 72 h (14.71 g lisina/16 g N), con diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$), seguido de cebada/malta, en cebada hubo incremento a las 48 h sin que este superara los otros extractos (Figura 18a, anexo 2 tabla 4). A 35°C el aumento se presentó en malta a 48 h (14.13 g lisina/16 g N) (Figura 18b, anexo 2 tabla 4). Tanto en los extractos de malta y cebada/malta a 28 y 35°C mostraron una disminución en

(a)



(b)

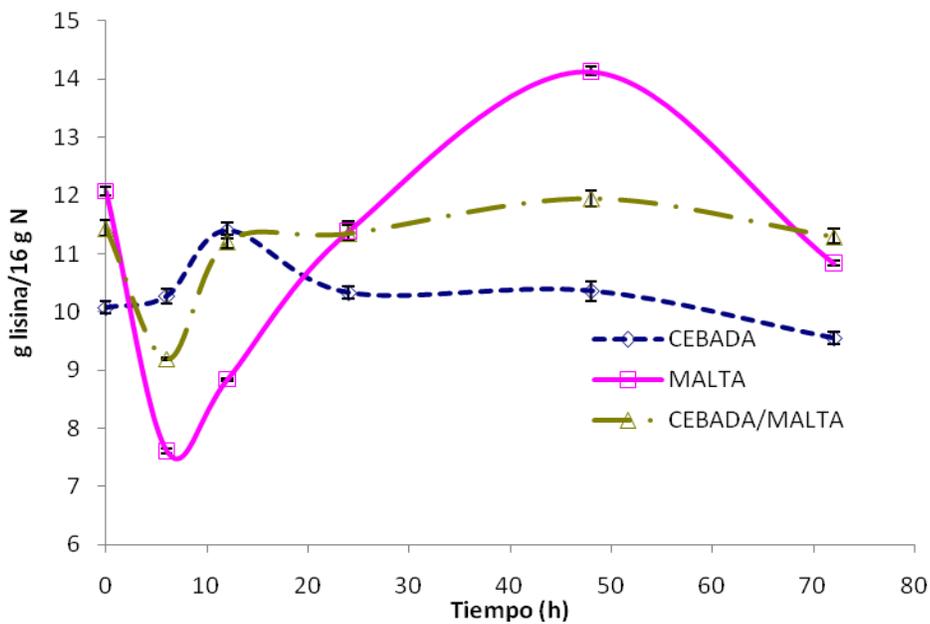


Figura 18. Efecto sobre el contenido de lisina durante la fermentación por *Lact. plantarum* 1407 en cebada, malta y cebada/malta a (a) 28°C y (b) 35°C.

las primeras 6 h. La mayor producción de lisina se dio en malta a las 72 h a 28°C y a 35°C a las 48 h.

El incremento de lisina libre podría ser por la habilidad de los microorganismos de sintetizar algunos aminoácidos (Sanni *et al.*, 1999), ya que los péptidos y los aminoácidos son disponibles a través de actividad proteolítica (Hammes *et al.*, 2005). Las BAL son conocidas por poseer enzimas proteolíticas que liberan compuestos nitrogenados de bajo peso molecular como aminoácidos y péptidos, aumentando su digestibilidad, además de garantizar su crecimiento durante la fermentación (Mundo Lácteo y Cárnico, 2008; León *et al.*, 2006; Dávila *et al.*, 2003). Con la adición de agua (1:8) en las harinas integrales (Muñoz, 2008), se incrementó la actividad de agua, esto provocó que los sustratos fueran disponibles por actividad hidrolítica endógena (proteólisis), y por actividad fisiológica de microorganismos añadidos deliberadamente (Hammes *et al.*, 2005). La disminución podría ser atribuida a *Lactobacillus plantarum* debido a que utiliza aminoácidos para su crecimiento, ya que la fermentación de harinas produce incremento de algunos aminoácidos, y la disminución de otros (Sanni *et al.*, 1999). Esto podría explicar los resultados en nuestro estudio, aunque no se tienen reportes de cuál es la temperatura óptima para la liberación de aminoácidos. Odunfa (1985) (citado en Sanni *et al.*, 1999) reportó un incremento en el contenido de aminoácidos en leguminosas y cereales fermentados. La metionina, aminoácido limitante en leguminosas, incrementó durante la producción de Tempeh kedele (alimento africano fermentado). También Wang (1977) (citado en Sanni *et al.*, 1999) reportó un incremento de lisina, durante la germinación y fermentación de maíz y sorgo.

8. CONCLUSIONES

Las condiciones de fermentación permitieron la producción de FD en todos los extractos fermentados a 28°C, debido a la posible producción de exopolisacáridos, la cual depende de la fase de crecimiento, la temperatura y el pH.

La fermentación redujo el AF principalmente en cebada a ambas temperaturas, debido probablemente a la producción de fitasas por parte del microorganismo, las cuales se relacionan con el pH y la temperatura, sin embargo la mayor reducción se presentó durante la esterilización de los extractos y en el malteado.

La proteína y lisina libre presentaron el mayor aumento en malta a ambas temperaturas, debido probablemente al desdoblamiento y síntesis microbiana de estos nutrientes, sin embargo no hay antecedentes que indiquen bajo qué condiciones hay mayor producción.

Por lo tanto la fermentación ácido láctica modificó la composición del extracto, principalmente de FDT.

Recomendaciones

- Dado que con la fermentación de *Lact. Plantarum* 1407 se presentó una disminución de AF, sería importante caracterizar bajo qué condiciones se producen las fitasas de los *Lactobacillus*.
- En lo que respecta a FD es recomendable profundizar en el estudio de FD y caracterización de esta, para que de esta manera se pueda determinar qué tipo EPS o sustancias se produjeron.
- Determinar lisina disponible.
- Evaluar las propiedades probióticas del microorganismo.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Agostoni C., Riva E., y Giovannini M. 1995. Dietary Fiber in Weaning Foods of Young Children. *Pediatrics*. 96 (5): 1002-1005.
- Alvarado C., García A., Martín S., y Regalado C. 2006. Food-associated lactic acid bacteria with antimicrobial potential from traditional Mexican foods. *Rev Latinoam Microbiol*. 48 (3-4): 260-268.
- Arndt E. A., 2006. Whole-grain barley for today's health and wellness need. *Cereal Foods World*. 51: 20-22.
- Astiasaran A. I. y Martínez J. A. 2000. Alimentos Composición y Propiedades, (ed) Mc Graw Hill Interamericana, 2a edición, España, pp. 324-330.
- Bancomext. Auguran crecimiento en producción de cebada. Disponible en: <http://www.bancomext.gob.mx/Bancomext/aplicaciones/noticias/muestraNoticia.jsp?idnoticia=1356>. Actualización: 19/Mar/2007.
- Bastardo Y. y Pedrique A. M. 2001. Producción de energía en los microorganismos. Cátedra de Microbiología. Facultad de Farmacia - Universidad Central de Venezuela.1-19.
- Bergmaier D., Champagne C. P. y Lacroix C. 2003. Exopolysaccharide production during batch cultures with free and immobilized *Lactobacillus rhamnosus* RW-9595M. *Journal of Applied Microbiology*. 95: 1049–1057.
- Cabrera, L. J. y Cárdenas, F. M. 2006. Importancia de la fibra dietética para la nutrición humana. *Rev. Cubana Salud Pública*. 32(4). Disponible en formato electrónico: http://bvs.sld.cu/revistas/spu/vol32_4_06/spu15406.htm. Fecha de consulta: 05/Nov/07.
- Cabeza H. E. 2005. Departamento de Microbiología, Colombia. Bacterias ácido-lácticas (BAL): aplicaciones como cultivos estárter para la industria láctea y cárnica. Disponible en: http://enalcahe.googlepages.com/Bacteriasacidolcticas_BAL__aplicacio.pdf. Fecha de consulta: 12/Feb/09.
- Cabeza H. E. 2007. Cultivos Estárter: Seguridad, funcionalidad y propiedades tecnológicas. Disponible en: http://enalcahe.googlepages.com/Cultivos_Starter.pdf. Fecha de

- consulta: 12/Feb/09.
- Cargill. 2007. Health Benefits Barley Foods. Health Food Technologies. Disponible en línea: www.baleyfoods.org/Health_Benefits_of_Barley.pdf. Fecha de consulta: 20/Sep/08.
- Centeno C., Viveros A., Brenes A., Canales R., Lozano A. y de la Cuadra C. 2001. Effect of Several Germination Conditions on Total P, Phytate P, Phytase, and Acid Phosphatase Activities and Inositol Phosphate Esters in Rye and Barley. *J. Agric. Food Chem.* 49 (7): 3208-3215.
- CFW. 2005. The Future of Barley. *Cereal Foods World.* 50 (5): 271 – 277.
- Champ, M., Langkilde, A. M., Brouns, F., Kettlitz, B. y Bail, C. Y. 2003. Advances in dietary fibre characterisation. 1. Definition of dietary fibre, physiological relevance, health benefits and analytical aspects. *Nutrition Research.* 16: 71-82.
- Charalampopoulos, D., Pandiella, S. S., Webb, C. y Wang R. 2002. Application of cereals and cereal components in functional foods. *J. Appl. Microbio.* 79: 131-141.
- Chavan U.D., Chavan J.K. y Kadam S.S. 1988. Effect of Fermentation on Soluble Proteins and *In Vitro* Protein Digestibility of Sorghum, Green Gram and Sorghum-Green Gram Blends. *J. Food Sci.* 53: 1574 – 1575.
- Cheftel C. J. 2004. Cereales. En: *Bioquímica de Granos y Cereales, el papel de los cereales, composición química y valor nutritivo de los cereales.* (ed) Universidad Nacional Federico Villarreal. México. 26-84.
- Cherbut, C. 2002. Inulin and oligofructose in the dietary fibre concept. *British J. Nutr.* 87: S159-S162.
- Cherl-Ho L. 1999. Cereal Fermentations in Countries of the Asia-Pacific Region. En: *Fermented Cereals. A Global Perspective.* FAO. Italia. pp: 59-89.
- Conway M. J. y Benall M. K. 2005. Health effects of barley consumption. *United States Department of Agriculture Beltsville.* Disponible en línea: <http://www.barleyfoods.org/article-03-2005-4.pdf>. Fecha de consulta: 20/Sep/07.
- Davila, M. A., Sangronis, E. y Granito M. 2003. Leguminosas germinadas o fermentadas: alimentos o ingredientes de alimentos funcionales. *Arch Latinoamer. Nutr.* 53 (4): 348-354.
- Dendy D. A. y Dobraszcyk B. J. 2004. Cereales y productos derivados. En: *Química*

- y *Tecnología*. (ed) Acribia. Zaragoza, España. pp: 403-421.
- Deshpande, S. S. 2002. Toxicants and Antinutrients in plant foods. En: *Handbook of food toxicology*. (ed) Marcel Dekker, Inc. New York, USA. pp: 334-337.
- Dongowski, G., Huth, M., Gebhardt, E. y Flamme W. 2002. Dietary fiber-rich barley products beneficially affect the intestinal tract of rats. *J. Nutr.* 132: 3704-3714.
- Escudero A. E. y González S. P. 2006. Fibra dietética. *Nutr. Hosp.* Madrid. 21: 61-72.
- Elyas S. H., El Tinay A. H., Yousif N. E. y Elsheikh E. A. 2002. Effect of natural fermentation on nutritive value and in vitro protein digestibility of pearl millet. *Food Chemistry* 78: 75-79.
- Fastnaught, C. E. 2001. Barley Fiber. En: *Handbook of Dietary*. Cho, Susan Sungsoo (ed). Marcel Dekker Incorporated, NY, USA. pp: 519-542.
- Fernández R. E. y Galván C. A. 1987. Métodos para la cuantificación de proteínas. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Campus Universitario de Rabanales. Disponible en: <http://www.uco.es/organiza/departamentos/bioquimica-biolumol/pdfs/27%20M%C3%89TODOS%20PARA%20LA%20CUANTIFICACI%C3%93N%20DE%20PROTE%C3%8DNAS.pdf>. Fecha de consulta: 05/May/09.
- Figuerola F., Estévez A. y Avendaño O. 2008. Desarrollo de un alimento de humedad intermedia de fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Archivos latinoamericanos de nutrición*. 58 (2): 193-200.
- García P. P. 2004. Clasificación de las fibras. En: *La fibra en la alimentación, Ámbito Hospitalario*. (ed) Edikamed S.L. SENPE. Barcelona. pp: 4.
- Godoy S. y Chicco C. F. 2005. Utilización del fósforo fítico en la nutrición de los rumiantes. *CENIAP HOY*. 9: 1-7.
- Gómez L. L. y Pedrón G. C. 2005. Recomendaciones. En: *La fibra en la alimentación. Patología digestiva infantil*. . SENPE. Barcelona. pp 4:6.
- González-M. B., Gómez-T. M., y Jiménez S. Z. 2003. Bacteriocinas como probióticos. *RESPY*. 4 (2).
- Gutiérrez C. L., García R. L., Vázquez O. F., Preciado H. K., Figueroa G. R. y López F. Y. 2008. Lisina total, digestible y reactiva digestible en harina de pescado. *FCV-LUZ*. XVIII (2): 218-224.

- Haard, N. F. 1999. Cereals: rationale for fermentation. En: *Fermented cereals. A global perspectiva*. FAO, Roma, Italia. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/x2184E/x2184E00.htm>. Fecha de consulta: 22/Feb/2007.
- Hammes, W. P., Brandt, M. J., Francis, K. L., J. Rosenheim, M. F. H. Seitter y Vogelmann S.A. 2005. Microbial ecology of cereal fermentations. *Trends in Food Science & Technology*. 16: 4–11.
- Hart, F. L. y Fisher, H.J., 1997. Técnicas de laboratorio para el análisis de alimentos. En: *Análisis moderno de los alimentos*. 3ª reimpresión. Acribia. Zaragoza. pp: 50-78.
- Hoseney, R. C. 1993. Estructura de los cereales. En: *Principios de ciencia y tecnología de los cereales*. (ed) Acribia. España. pp 23.
- Hurrell R. F., Lerman P. y Carpenter K. J. 1979. Reactive lysine in foodstuffs as measured by a rapid dye – binding procedure. *J. Food Sci.* 44: 1221-1231.
- Kathleen M. L. y Escott S. S. 1998. Proteínas. En: *Nutrición y Dietoterapia de Krause*. Mc Graw Hill. México. pp: 63-76.
- Kirk R. S., Sawyer R. y Egan H. 2002. Métodos químicos generales. En: *Composición y análisis de alimentos de Pearson*. Quinta reimpresión. Compañía editorial continental. México. pp: 19-23.
- Lambo, A. M., Oste, R. y Nyman M. 2005. Dietary fibre in fermented oat and barley β -glucan rich concentrates. *Food Chemistry*. 89: 283-293.
- León M. A., Montoya I. O., Motato E. K., Granda M. D., Caro A. C., Restrepo M. J., Echeverri S., Valencia J. y Quinchía L. 2006. Bacterias ácido lácticas (BAL) silvestres colombianas presentan propiedades adecuadas para la fabricación de masa ácida. *VITAE*. 13 (2): 26-35.
- Lopez H. W., Ouvry A., Bervas E., Guy C., Messenger A., Demigne C. y Remesy C. 2000. Strains of Lactic Acid Bacteria Isolated from Sour Doughs Degrade Phytic Acid and Improve Calcium and Magnesium Solubility from Whole Wheat Flour. *J. Agric. Food Chem.* 48: 2281-2285.
- López, P. P., Guzmán, O. F. y Román G. A. 2005. Calidad Física de Diferentes Variedades de Cebada (*Hordeum sativum* Jess) Cultivadas en los Estados de

- Hidalgo y Tlaxcala. Disponible en línea: http://www.respyn.uanl.mx/especiales/2005/ee-13_2005/documentos/CNA02.pdf. Fecha de consulta: 18/Jun/08.
- Luna J. A. 2007. Composición y procesamiento de la soya para consumo humano. *Investigación y Ciencia*. 15 (37): 35-44.
- Manju G., NeelaM K. y Chauhan B. M. 1991. Rabadi fermentation of wheat: changes in phytic acid content and in vitro digestibility. *Plants Foods for Human Nutrition*. 42: 109-116.
- Martínez, D. B., Ibáñez, G. M. V. y Rincón, L. F. 2002. Ácido fítico: aspectos nutricionales e implicaciones analíticas. *Universidad de Córdoba- Córdoba, España. Archivos Latinoamericanos de Nutrición ISSN 0004-0622*. 52:1-22.
- Molina, M. M. y Martín I. A. 2007. La fibra dietética procesada como alimento funcional. *Ámbito Farmacéutico Nutrición*. 26: 70-77.
- Muñoz V. 2008. Fermentación ácido láctica de extractos de cebada y malta por *Lactobacillus plantarum*. Tesis. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. México.
- Mundo Lácteo y Cárnico. 2008. Formación de péptidos bioactivos por BAL (Bacterias Ácido Lácticas) en quesos y suero de quesería. Disponible en: http://www.alimentariaonline.com/apadmin/img/upload/MLC022_bal.pdf. Fecha de consulta: 18/Nov/08.
- Odufa S. A. 1999. Cereal Fermentations in African Countries. En: *Fermented Cereals. A Global Perspective*. FAO. Italia. pp: 33-58.
- Pamplona R. J. 2004. Alimentos para el aparato digestivo. En: *Enciclopedia de los alimentos y su poder curativo*. Biblioteca educación y salud. España. pp: 150-174.
- Pearson D. 1976. Métodos generales – constituyentes básicos. En: *Técnicas de laboratorio para el análisis de alimentos*. (ed) Acribia. España. pp: 63.
- Pineiro E. 2008. Consumer Eroski. Beneficios del Ácido fítico. Disponible en: <http://www.consumer.es/web/es/alimentacion/tendencias/2008/01/28/174102.ph>. Fecha de consulta: 10/Enero/09.
- Quintero-Ramírez R. Lorence-Quiñones A. y Wachter-Rodarte C. 1999. Cereal Fermentations in Latin American Countries. En: *Fermented Cereals. A Global*

- Perspective*. FAO. Italia. pp: 90-103.
- Quitral V, Abugoch L, Vinagre J y Larraín M. 2001. Efecto de tratamientos térmicos sobre el contenido de lisina disponible en carne de jaiba mora (*Homalaspis plana*). *Scielo*. 51: 4.
- Ramos G. P., Frutos F.J., Giráldez y Mantecón A. R. 1998. Los Compuestos Secundarios de las Plantas en la Nutrición de los Herbívoros. *Arch. Zootec*. 47: 597-620.
- SAGARPA. 2008. Avance de siembras y cosechas. Resumen nacional por producto, otoño-invierno. Riego y Temporal. Disponible en: http://reportes.siap.gob.mx/Agricola_siap/ResumenProducto.do. Fecha de consulta: 21/Feb/09.
- Sanjurjo P. y Ojembarrena E. 2001. Problemática nutricional del vegetarianismo en el embarazo, la lactancia y la edad infantil. *Acta Pediatr Esp*. 59: 632-641.
- Sanni, A. I., Onilude, A. A. y Ibadabo, O. T. 1999. Biochemical composition of infant weaning food fabricated from fermented blends of cereals and soybean. *Food Chem*. 65:35-39.
- Saura, C. D., Goñi, C. I., Albarran, M. C. y Pulido, F. R. 2002. Fibra dietética en nutrición y salud. En: *Fibra dietética en cerveza: contenido, composición y evaluación nutricional*. (ed) Cerveza y salud. España. pp: 4-14.
- Serrano J. y Goñi I. 2004. Papel del frijol negro *Phaseolus vulgaris* en el estado nutricional de la población guatemalteca. *Scielo*. 54: (1): 36-44.
- Serna S. R. O. 2001. Propiedades físicas y clasificación de los cereales. En: *Química, almacenamiento e industrialización de los cereales*. (ed.) A. G. T. México. pp: 98-99.
- Shi, J., Wang, H., Wu, Y., Hazebroek, J., Meeley, R. B., y Ertl, D. S. 2003. The Maize Low-Phytic Acid Mutant *lpa2* Is Caused by Mutation in an Inositol Phosphate Kinase Gene. *Plant Physiology*. 131: 507-515.
- Sotelo A., Mendoza J., y Argote R. 2002. Contenido de ácido fítico en algunos alimentos crudos y procesados. Validación de un método colorimétrico. *Rev. Soc. Quím. Mex*. 46 (4): 301-306.
- Solorzano R. H. 2003. La lisina y la salud. *Terapia Bioquímica Nutricional*. Disponible

- en: <http://www.hector.solorzano.com/articulos/lisina.html>. Última modificación: 30/Julio/03. Fecha de consulta: 05/May/09.
- Sripriya G., Antony U. y Chandra T. S. 1997. Changes in carbohydrate, free amino acids, organic acids, phytate and HCl extractability of minerals during germination and fermentation of finger millet (*Eleusine coracana*). *Food. Chem.* 58: 345-350.
- Tatsadjieu N. L., Etoa F. X. y Mbofung C. M. 2004. Drying kinetics, Physico-chemical and Nutritional Characteristics of "Kindimu", a Fermented Milk-Based-Sorghum-Flour. *The Journal of Food Technology in Africa.* 9 (1): 17-22.
- Torres A., Guerra M. y Rosquete Y. 2001. Estimación de la vida útil de una fórmula dietética en función de la disminución de lisina disponible. *Cienc. Tecnol. Aliment.* 21(2): 129-133.
- Valencia G. F. y Román M. M. 2004. La fibra dietaria como alimento funcional. *VITAE.* 11 (2): 12-17.
- Vázquez M. C., Cos B. A., López N. C., y Alcaráz C. F. 2005. Proteínas. En: *Alimentación y Nutrición: Manual Teórico – Práctico.* 2ª edición. (ed.) Díaz de Santos. España. pp: 25-27.
- Vega S. M., Burciaga V. G., Guerrero O. J., Raúl Gándara H. R. y Cuevas A. M. 2003. Utilización de microorganismos en laboratorio para determinar lisina en grano de maíz. *Instituto Mexicano del Maíz.* Disponible en: <http://www.uaaan.mx/DirInv/Rdos2003/maiz/lisina.pdf>. Fecha de consulta: 05/May/09.
- Villarreal C. A., Ricque M. D., Tapia S. M., Nieto L. M., Guajardo B. C., Lemme A. y Cruz S.E. 2003. Digestibilidad aparente de aminoácidos de 10 harinas de pescado utilizadas en alimentos comerciales para camarón blanco (*L. vannamei*) en México. IX Simposio Internacional de Nutrición Acuícola. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, México. pp: 382-409.
- Vinjamoori, D.V., Byrum, J. R., Hayes, T. y Das, P. K. 2004. Challenges and opportunities in the analysis of raffinose oligosaccharides, pentosans, phytate, and glucosinolates. *J. Anim. Sci.* 82: 319-328.
- Waldir Estela, Rychtera M., Melzoch K., Quillama E. y Egoavil E. 2007. Producción de ácido láctico por *Lactobacillus plantarum* L10 en cultivos batch y continuo.

Rev. Peru. Biol. 14(2): 271-275.

Wilches F. A. 2004. Caracterización preliminar de enzimas relacionadas con la síntesis de exopolisacáridos producidos por *Raoultella Terrigena* y *Pseudomonas Fluorescens*. *Rev. Acad. Colomb. Cienc.* 28 (109): 577-583.

Wilches F. A. 2005. Estudio genético preliminar de bacterias ácido lácticas productoras de exopolisacaridos (EPS). *Bistua.* 3(2): 12-18.

Zamudio M. y Karin L. 2005. Lactobacilos nativos productores de exopolisacáridos de interés biotecnológico. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú.

GLOSARIO

Ácido abscísico: Potente inhibidor del crecimiento que ha sido propuesto para jugar un papel regulador en respuestas fisiológicas tan diversas como el letargo, abscisión de hojas y frutos y estrés hídrico, y por lo tanto tiene efectos contrarios a las de las hormonas de crecimiento (auxinas, giberelinas y citocininas).

Ácidos gibeléricos (gibelerinas): Hormonas que se encuentran naturalmente en plantas y hongos y que regulan una serie de procesos metabólicos.

β-glucano: Polímero de glucosa que se encuentra en las paredes de las células del endospermo de los granos de cebada no malteada.

Exopolisacáridos: Azúcares complejos generados por microorganismos, del tipo del almidón, que pueden descomponerse en varios monosacáridos.

Germinación: Crecimiento manipulado de la cebada remojada (o trigo/sorgo) para el desarrollo de enzimas hidrolíticas en el endospermo que efectuarán la modificación del almidón, proteínas y paredes celulares en extracto útil.

Malteado: El malteado consta del remojo y germinación de la cebada produciendo amilasas y proteasas, seguido de un secado sin inactivar significativamente la actividad de las enzimas.

ANEXOS

1. Análisis estadístico

Tabla 1: Contenido de fibra dietética, ácido fítico, proteína y lisina libre en harinas integrales

| HARINAS | FD (mg FD/g peso seco) | Ac. Fítico (mg AF/100 g) | Proteína (Porcentaje) | Lisina (g lisina/16 g N) |
|--------------|---------------------------|-----------------------------|---------------------------|-----------------------------|
| Cebada | 11.97 ± 0.27 ^a | 0.43 ± 0.00 ^a | 12.37 ± 0.00 ^a | 10.37 ± 0.12 ^b |
| Malta | 10.83 ± 0.02 ^b | 0.40 ± 0.01 ^b | 8.73 ± 0.11 ^b | 8.74 ± 0.08 ^c |
| Cebada/malta | 11.65 ± 0.18 ^a | 0.44 ± 0.00 ^a | 8.87 ± 0.02 ^b | 11.66 ± 0.02 ^a |

Distintos superíndices en los valores de una misma columna indican diferencias significativas. Diferencia con prueba de ANOVA P < 0.05

2. Análisis estadístico de las cinéticas de fermentación

Tabla 1: Contenido de fibra dietética (mg FD/g peso seco) en los extractos fermentados de cebada, malta y cebada/malta a 28 y 35°C.

| 28°C | | | | |
|------|------------|-----------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| | Tiempo (h) | Cebada | Malta | Cebada/malta |
| | 0 | 6.08 ± 1.44 ^{b x} | 4.05 ± 0.96 ^{b x} | 6.67 ± 1.60 ^{b x} |
| | 24 | 11.52 ± 1.94 ^{a x} | 10.86 ± 0.06 ^{a x} | 10.78 ± 1.53 ^{a, b x} |
| | 72 | 14.08 ± 0.09 ^{a x} | 9.94 ± 0.70 ^{a x} | 14.30 ± 2.26 ^{a x} |
| 35°C | | | | |
| | 0 | 6.33 ± 1.20 ^{b x} | 3.42 ± 0.66 ^{b y} | 6.33 ± 0.41 ^{a x} |
| | 24 | 11.98 ± 1.26 ^{a x} | 8.58 ± 0.06 ^{a x} | 9.93 ± 2.34 ^{a x} |
| | 72 | 10.75 ± 0.86 ^{a x} | 7.85 ± 1.37 ^{a x, y} | 6.39 ± 1.01 ^{a y} |

^{a, b} Distintos superíndices en los valores de una misma columna indican diferencias significativas.

^{x, y} Distintos superíndices en los valores de una misma línea indican diferencias significativas.

Diferencia con prueba de ANOVA P < 0.05

Tabla 2. Contenido de ácido fítico (mg AF/100 g) en los extractos fermentados de cebada, malta y cebada/malta 28°C y 35°C.

| 28°C | | Cebada | Malta | Cebada/malta |
|------------|--|--------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------|
| Tiempo (h) | | | | |
| 0 | | 0.2132 ± 0.0149 ^{a x} | 0.1550 ± 0.0048 ^{a y} | 0.1293 ± 0.0040 ^{b z} |
| 6 | | 0.1824 ± 0.0083 ^{b x} | 0.0922 ± 0.0000 ^{c z} | 0.1200 ± 0.0050 ^{c y} |
| 12 | | 0.1593 ± 0.0017 ^{c x} | 0.0918 ± 0.0043 ^{c z} | 0.1187 ± 0.0058 ^{c y} |
| 24 | | 0.1417 ± 0.0047 ^{d x} | 0.0930 ± 0.0058 ^{c z} | 0.1310 ± 0.0042 ^{b y} |
| 48 | | 0.1447 ± 0.0032 ^{d x} | 0.1352 ± 0.0032 ^{b y} | 0.1267 ± 0.0047 ^{c, b z} |
| 72 | | 0.1204 ± 0.0008 ^{e z} | 0.1497 ± 0.0000 ^{a x} | 0.1427 ± 0.0016 ^{a y} |
| 35°C | | | | |
| 0 | | 0.2092 ± 0.0000 ^{a x} | 0.1756 ± 0.0052 ^{a y} | 0.1511 ± 0.0133 ^{a z} |
| 6 | | 0.1638 ± 0.0050 ^{b x} | 0.1628 ± 0.0008 ^{b, a x} | 0.1522 ± 0.0018 ^{a y} |
| 12 | | 0.1531 ± 0.0021 ^{c x} | 0.1563 ± 0.0016 ^{b x} | 0.1543 ± 0.0059 ^{a x} |
| 24 | | 0.1369 ± 0.0042 ^{d x} | 0.1482 ± 0.0046 ^{b, c x} | 0.1486 ± 0.0093 ^{a x} |
| 48 | | 0.1325 ± 0.0040 ^{d y} | 0.1383 ± 0.0188 ^{d, c x, y} | 0.1572 ± 0.0059 ^{a x} |
| 72 | | 0.0859 ± 0.0032 ^{e z} | 0.1307 ± 0.0055 ^{d y} | 0.1540 ± 0.0027 ^{a x} |

^{a-e} Distintos superíndices en los valores de una misma columna indican diferencias significativas.

^{x-z} Distintos superíndices en los valores de una misma línea indican diferencias significativas.

Diferencia con prueba de ANOVA P < 0.05

Tabla 3. Contenido de proteína (porcentaje) en los extractos fermentados de cebada, malta y cebada/malta 28°C y 35°C.

| 28°C | | | | |
|------|------------|----------------------------|------------------------------|------------------------------|
| | Tiempo (h) | Cebada | Malta | Cebada/malta |
| | 0 | 11.19 ± 0.15 ^{cy} | 11.2956 ± 0.21 ^{dy} | 12.31 ± 0.09 ^{bx} |
| | 6 | 10.33 ± 0.24 ^{dy} | 11.3015 ± 0.20 ^{dx} | 10.68 ± 0.03 ^{dy} |
| | 12 | 11.17 ± 0.06 ^{cy} | 12.5112 ± 0.20 ^{cx} | 10.87 ± 0.09 ^{dy} |
| | 24 | 11.96 ± 0.23 ^{bz} | 14.7615 ± 0.48 ^{ax} | 13.28 ± 0.08 ^{ay} |
| | 48 | 11.45 ± 0.24 ^{cy} | 11.1907 ± 0.16 ^{dy} | 12.01 ± 0.10 ^{cx} |
| | 72 | 12.86 ± 0.20 ^{ay} | 13.7763 ± 0.31 ^{bx} | 13.19 ± 0.17 ^{ay,x} |
| 35°C | | | | |
| | 0 | 11.68 ± 0.02 ^{ax} | 10.57 ± 0.05 ^{dy} | 10.73 ± 0.07 ^{cy} |
| | 6 | 10.74 ± 0.26 ^{bx} | 10.31 ± 0.37 ^{dx} | 9.17 ± 0.07 ^{fy} |
| | 12 | 11.08 ± 0.02 ^{bx} | 10.74 ± 0.13 ^{dy} | 9.95 ± 0.05 ^{ez} |
| | 24 | 11.66 ± 0.24 ^{ax} | 11.86 ± 0.16 ^{cx} | 11.72 ± 0.06 ^{bx} |
| | 48 | 11.80 ± 0.05 ^{ay} | 13.18 ± 0.23 ^{bx} | 10.15 ± 0.05 ^{dz} |
| | 72 | 11.70 ± 0.16 ^{az} | 14.37 ± 0.00 ^{ax} | 12.44 ± 0.10 ^{ay} |

^{a-f} Distintos superíndices en los valores de una misma columna indican diferencias significativas.

^{x-z} Distintos superíndices en los valores de una misma línea indican diferencias significativas.

Diferencia con prueba de ANOVA P < 0.05

Tabla 4. Contenido de lisina libre (g lisina/16 g N) en los extractos fermentados de cebada, malta y cebada/malta 28°C y 35°C

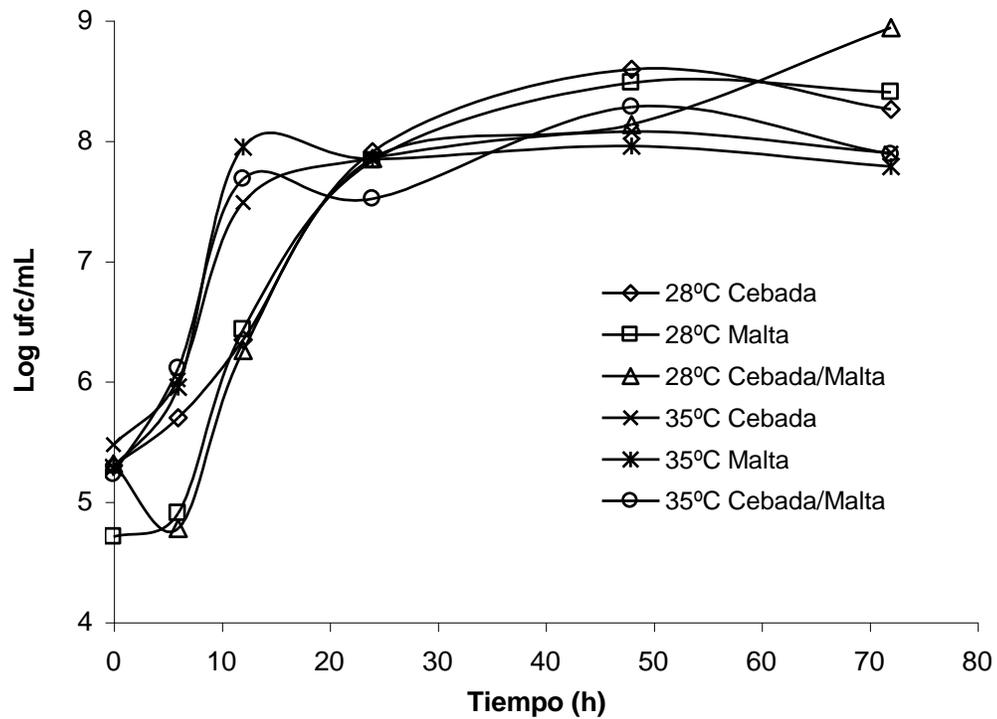
| 28°C | | Cebada | Malta | Cebada/malta |
|------------|--|------------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Tiempo (h) | | | | |
| 0 | | 8.83 ± 0.10 ^{ey} | 13.84 ± 0.02 ^{cx} | 13.76 ± 0.09 ^{bx} |
| 6 | | 10.66 ± 0.19 ^{dz} | 11.83 ± 0.11 ^{fy} | 13.36 ± 0.19 ^{cx} |
| 12 | | 11.21 ± 0.45 ^{cz} | 13.11 ± 0.08 ^{ey} | 13.94 ± 0.10 ^{bx} |
| 24 | | 11.19 ± 0.04 ^{cz} | 13.62 ± 0.10 ^{dx} | 13.20 ± 0.15 ^{cy} |
| 48 | | 13.42 ± 0.43 ^{ay} | 14.07 ± 0.04 ^{bx} | 14.50 ± 0.05 ^{ax} |
| 72 | | 12.35 ± 0.22 ^{bz} | 14.71 ± 0.03 ^{ax} | 13.87 ± 0.07 ^{by} |
| 35°C | | | | |
| 0 | | 10.07 ± 0.10 ^{cz} | 12.06 ± 0.07 ^{bx} | 11.43 ± 0.13 ^{by} |
| 6 | | 10.27 ± 0.13 ^{b,cx} | 7.61 ± 0.04 ^{fz} | 9.19 ± 0.02 ^{cy} |
| 12 | | 11.31 ± 0.13 ^{ax} | 8.84 ± 0.02 ^{ey} | 11.21 ± 0.12 ^{bx} |
| 24 | | 10.32 ± 0.10 ^{by} | 11.39 ± 0.16 ^{cx} | 11.35 ± 0.13 ^{bx} |
| 48 | | 10.36 ± 0.16 ^{bz} | 14.13 ± 0.07 ^{ax} | 11.95 ± 0.13 ^{ay} |
| 72 | | 9.55 ± 0.10 ^{dz} | 10.83 ± 0.04 ^{dy} | 11.29 ± 0.13 ^{bx} |

^{a-f} Distintos superíndices en los valores de una misma columna indican diferencias significativas.

^{x-z} Distintos superíndices en los valores de una misma línea indican diferencias significativas.

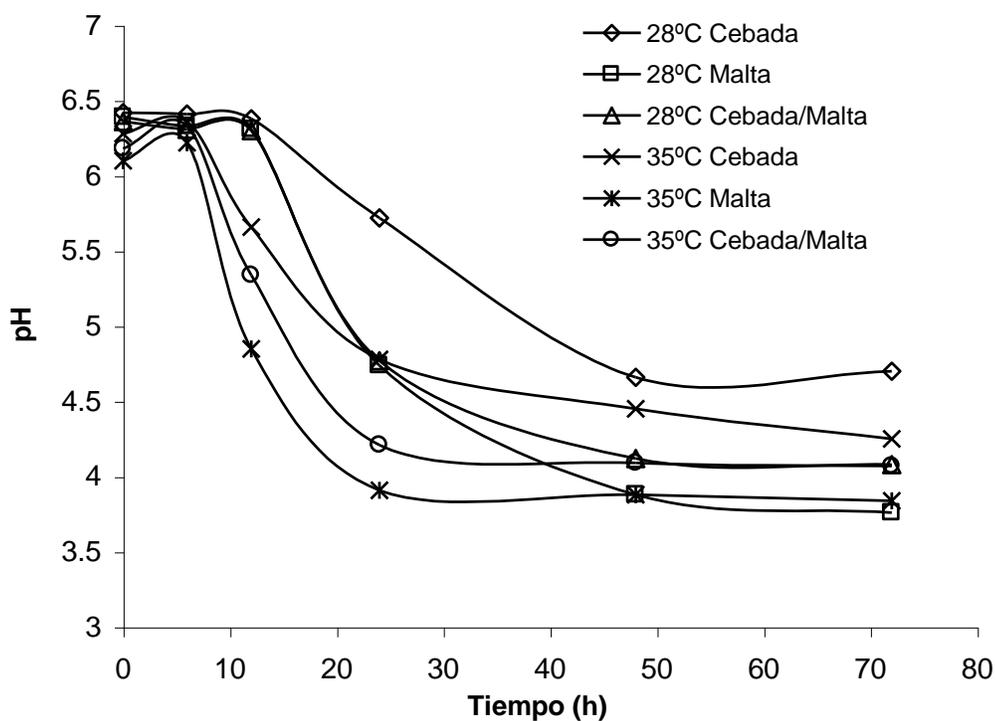
Diferencia con prueba de ANOVA $P < 0.05$

3. Crecimiento de *Lact. plantarum* 1407. Estudio previo de Muñoz (2008)



Crecimiento de *Lact. plantarum* 1407 durante la fermentación en extracto complejo de harina integral de cebada, malta y cebada/malta a 28°C y 35°C.

4. pH. Estudio previo de Muñoz (2008).



Efecto sobre el pH durante la fermentación por *Lact. plantarum* 1407 en el extracto complejo de harina integral de cebada, malta y cebada/malta a 28°C y 35°C.

| pH | Tiempo (h) | | | | | |
|-----------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | 0 | 6 | 12 | 24 | 48 | 72 |
| Cebada28 | 6.42 ± 0.01 ^a | 6.41 ± 0.01 ^c | 6.38 ± 0.01 ^d | 5.72 ± 0.01 ^d | 4.66 ± 0.01 ^d | 4.67 ± 0.06 ^d |
| Cebada35 | 6.27 ± 0.05 ^a | 6.36 ± 0.01 ^b | 5.66 ± 0.01 ^c | 4.78 ± 0.01 ^c | 4.45 ± 0.01 ^c | 4.25 ± 0.02 ^c |
| Malta 28 | 6.39 ± 0.02 ^a | 6.33 ± 0.01 ^b | 6.31 ± 0.01 ^d | 4.74 ± 0.01 ^c | 3.88 ± 0.01 ^a | 3.76 ± 0.04 ^a |
| Malta 35 | 6.1 ± 0.46 ^a | 6.23 ± 0.03 ^a | 4.85 ± 0.01 ^a | 3.92 ± 0.02 ^a | 3.88 ± 0.01 ^a | 3.84 ± 0.02 ^a |
| Ceb/mal28 | 6.36 ± 0.01 ^a | 6.32 ± 0.01 ^b | 6.31 ± 0.01 ^d | 4.77 ± 0.02 ^c | 4.12 ± 0.01 ^b | 4.08 ± 0.01 ^b |
| Ceb/mal35 | 6.18 ± 0.01 ^a | 6.33 ± 0.03 ^b | 5.34 ± 0.01 ^b | 4.21 ± 0.01 ^b | 4.09 ± 0.01 ^b | 4.07 ± 0.01 ^b |

5. Imágenes de los equipos utilizados en este proyecto

| | |
|---|---|
|  |  |
| Baño de agua con agitación horizontal (Scorpion Scientific, modelo 147280) | Horno de aire (Scorpion Scientific, Horno Oven) |
|  |  |
| Digestor (Kjeldatherm, Gerhardt) | Destilador |
|  |  |
| Mufla (Thermolyne, Furnace 1500) | Homogeneizador (PRO Scientific Inc, Pro 200) |

| | |
|---|--|
|  A white Eppendorf Thermomixer compact with a clear lid and a control panel featuring a digital display and several buttons. |  A light blue and white Hettich Mikro 22 R centrifuge with a control panel on the front and a lid on top. |
| <p>Agitador (Thermomixer compact, modelo 22331)</p> | <p>Microcentrifuga (Hettich Zentrifugen, modelo 22331)</p> |
|  A large, teal-colored Lab Companion SI-600 incubator with a glass door and a control panel at the bottom. |  A computer workstation including a tower PC, a monitor displaying a desktop background, a keyboard, and a mouse. |
| <p>Incubadora de mesa con agitación (Lab. Companion SI-600)</p> | <p>Lector de microplacas (Espectrofotometro lamda fluoro 320 FLX 800L)</p> |
|  A white Lab-Techne Genius thermocycler with a blue lid and a control panel with a digital display and buttons. | |
| <p>Termociclador (Lab-Techne, Genius)</p> | |