

# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

PROGRAMA DE POSGRADO EN ALIMENTOS  
DEL CENTRO DE LA REPÚBLICA  
(PROPAC)

## EFFECTOS DE MICROONDAS E INFRARROJO EN LA CALIDAD MALTERA DE CEBADA (*Hordeum vulgare L.*)

TESIS

QUE COMO PARTE DE LOS REQUISITOS PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIA DE LOS ALIMENTOS

PRESENTA:

Q. EN A. PATRICIA LÓPEZ PEREA

QUERÉTARO, QRO. JUNIO 2011



Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Química  
Doctorado en Ciencia de los Alimentos

**EFFECTOS DE MICROONDAS E INFRARROJO EN LA CALIDAD MALTERA  
DE CEBADA (*Hordeum vulgare* L.)**

**TESIS**

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de

Doctor en Ciencia de los Alimentos

**Presenta:**

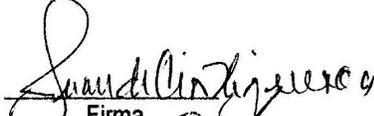
Q. en A. Patricia López Perea

**Dirigido por:**

Dr. Juan de Dios Figueroa Cárdenas

**SINODALES**

Dr. Juan de Dios Figueroa Cárdenas  
Presidente

  
Firma

Dra. Rosalía Reynoso Camacho  
Secretario

  
Firma

Dr. Ramón Alvar Martínez Peniche  
Vocal

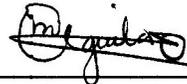
  
Firma

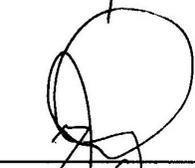
Dr. Hector Eduardo Martínez Flores  
Suplente

  
Firma

Dra. Alma Delia Román Gutiérrez  
Suplente

  
Firma

  
Q. B. Magaly E. Aguilar Ortíz  
Director de la Facultad

  
Dr. Luis G. Hernández Sandoval  
Director de Investigación y  
Posgrado

## RESUMEN

Desde hace 10, 000 años o más, la cebada (*Hordeum vulgare L.*) en sus diversas formas ha sido uno de los cereales más importantes en el mundo. Hoy, la cebada se cultiva en casi todos los rincones del mundo, sirviendo como alimento básico para humanos y animales, y un ingrediente clave en la producción de cerveza. En México la comercialización del grano de cebada se rige bajo la norma NMX-FF-043-SCFI-2003, en la cual se especifican los parámetros de calidad a cumplir para ser considerada como cebada maltera. En los últimos años, el mejoramiento genético se ha utilizado para aumentar la calidad de la cebada para su uso en la industria cervecera; la formación de una variedad de buena calidad maltera puede durar de 5 a 10 años. Una nueva alternativa que se propone en el presente trabajo es la modificación física del grano de cebada forrajera o maltera a partir de la irradiación de microondas e infrarrojo (IR) para incrementar la calidad industrial en menor tiempo. Por lo tanto el objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos de la irradiación con microondas e IR sobre las propiedades mecánicas, calidad maltera y cambios en algunos componentes bioquímicos del grano de diferentes variedades de cebada. Se trabajó con dos variedades de tipo maltero y dos de tipo forrajero. En pruebas preliminares se observó que a temperaturas mayores de 50°C se reducía la germinación del grano. Los tiempos de irradiación seleccionados con microondas fueron 4 y 8 seg, para IR 37 y 54 seg. Los granos tratados a 4 y 37 seg presentaron un incremento en el extracto de malta cerca de 7 % con microondas y de 4 % con IR, transformándose en maltas de mejor calidad. También a estos tiempos de irradiación hubo una disminución de la viscosidad del mosto, dureza, módulo de elasticidad, fibra dietética y  $\beta$ -glucanos del mosto; no se observó efecto alguno de la radiación sobre el contenido de nitrógeno y los sistemas enzimáticos. Micrografías obtenidas mostraron varios efectos de la radiación sobre la superficie del gránulo de almidón, produciendo una disminución de la viscosidad máxima en RVA y cristalinidad detectada con difracción de rayos-X. Por otra parte la espectroscopia DRIFT mostró que las microondas y el IR afectaron la estructura secundaria de las proteínas, rompiendo o debilitando enlaces puente de hidrógeno en  $\alpha$ -hélice y lámina  $\beta$ , así como entre proteína-almidón, dando lugar a cambios en la hidrofobicidad de prolaminas, sin modificar su peso molecular. Otros cambios observados fueron en la estructura de polisacáridos como  $\beta$ -glucanos. Sin embargo en tratamientos con tiempos mas prolongados de irradiación se obtuvo un efecto reversible de la estructura secundaria de las proteínas y las interacciones de proteína-almidón, así como de la calidad.

**Palabras clave:** (microondas, infrarrojo, cebada, calidad maltera, propiedades mecánicas, componentes bioquímicos)

## SUMMARY

Since 10,000 years ago or more, barley (*Hordeum vulgare L.*) in its various forms has been among the world's most important cereal. Today, barley is harvested in nearly every corner of the globe, serving as a staple food for humans and animals, and a key ingredient in beer production. In Mexico, the marketing of barley grain is regulated under the standards of NMX-FF-043-SCFI-2003, which specifies the quality parameters to meet the kernel to be considered as malting barley. In recent years, genetic breeding has been used to increase the quality of barley for use in the brewing industry; this process can last from 5 to 10 years. In recent years, the genetic improvement has been used to increase the quality of barley for use in the brewing industry; the formation of a good malting cultivar can take as long as 5 to 10 years. A new alternative that was proposed in this study is was the physical modification of the barley kernel of feed and malting barley with microwave and infrared (IR) irradiation to increase the industrial quality in a short period of time. Therefore, the aim of this study was evaluate the effects of microwave and IR irradiation on the mechanical properties, malting quality and changes in some biochemistry components of kernel of different barley varieties. The barley cultivars evaluated were two malting cultivars and two feed cultivars. Preliminary tests showed that treatments with temperature higher than 50°C decreased the grain germination performance. The microwave irradiation times selected were 4 and 8 sec, for IR 37 and 54 sec. The kernels treated for 4 sec with microwave and 37 sec of IR irradiation showed an increment in the malt extract around 7 % with microwave and 4 % with IR respectively. Also to those treatments showed a better quality performance related to a decreament of the wort viscosity, kernel hardness, elastic modulus, dietary fiber and wort  $\beta$ -glucans. The microwave or IR irradiation did not show any negative effects on the enzymatic systems. The micrographs showed some effects of the irradiation treatments on the starch granule surfaces that reduced the starch peak viscosity of RVA and cristallinity detected by X-ray diffraction. On the other hand the DRIFT spectroscopy showed that the microwaves and IR had an effect on the secondary structure of the proteins, by breaking hydrogen bonds in  $\alpha$ -helix and  $\beta$ -sheet, as well as between protein-starch; resulting in changes in the hydrophobicity of prolamins, without changing its molecular weight. Changes were also observed in the structure of polysaccharides such as  $\beta$ -glucans. However, treatments with longer irradiation times yielded a reversible effect on the secondary structure of proteins and protein-starch interactions, as well as quality.

**Key words:** (microwave, infrared, barley, malting quality, mechanical properties, biochemistry components)

## DEDICATORIAS

*A Dios* por todas las enseñanzas que me ha puesto en mi vida, por la fuerza que me dio cada día para poder continuar y llegar al final de esta meta, por poder estar aquí y ver el fruto de 5 años de mi vida.

*A mis padres* por estar a mi lado en cada paso y aventura que he emprendido, por siempre darme todo su apoyo desde el inicio y término de cada proyecto, por compartir mi felicidad y también mis tristezas, por todos sus consejos que me han servido y servirán a lo largo de la vida, por este logro que he alcanzado que también es suyo.

*A mis hermanas* por brindarme su ayuda en todo momento cuando la llegue a necesitar, por ser parte de los cimientos en donde inició esta aventura y creer en mí.

*A J. G. L. T.* por haber coincidido en esta vida y darme grandes momentos que serán inolvidables, por haber sido la fuerza para dar el último impulso, por darme esa serenidad en los momentos duros aún cuando la distancia es grande, por ser el ángel que siempre llevaré conmigo.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para realizar los estudios de doctorado.

Al Programa de Posgrado en Alimentos del Centro de la República (PROPAC) por haberme dado la oportunidad de continuar con mis estudios de posgrado.

Al Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV) unidad Querétaro por permitir el uso de sus instalaciones y equipo para el desarrollo del presente trabajo de investigación.

Al Dr. Juan de Dios Figueroa por creer en mí y apoyarme a lo largo de este proceso, por toda la asesoría brindada y conocimientos compartidos.

A todos los miembros de mi comité por enriquecer este trabajo de investigación con todos sus comentarios y sugerencias.

A Marce, Juan y Mundo por su apoyo en el trabajo de laboratorio, pero más por el apoyo personal brindado en todo momento.

A mis amigas de la UAQ por cada uno de los momentos vividos, por su ayuda tanto en lo académico como personal. En especial a Jai por haberme dado tu amistad desde el primer día de la maestría, por estar en las buenas y en las malas.

A Nalle, Richo, Amy, Lili, Mara y Fany por ser la familia de laboratorio, por todos esos momentos de risa y lágrimas vividos, por su amistad incondicional, por hacer los días más alegres y por todos los pasteles compartidos también.

A todas las personas que de alguna forma contribuyeron con un granito de arena para construir este pilar de mi vida.

## ÍNDICE

RESUMEN .....	i
SUMARY .....	ii
DEDICATORIAS .....	iii
AGRADECIMIENTOS .....	iv
ÍNDICE .....	v
ÍNDICE DE CUADROS .....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS .....	x
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA .....	3
2.1 Generalidades de la cebada.....	3
2.2 Botánica .....	5
2.2.1 Taxonomía.....	5
2.2.2. Anatomía del cebada.....	5
2.2.3 Fisiología del fruto.....	8
2.3 Composición química del grano de cebada.....	9
2.3.1 Hidratos de carbono .....	10
2.3.2 Compuestos nitrogenados.....	14
2.3.2.1 Proteínas de almacenamiento de la cebada.....	15
2.3.2.2 Proteínas citoplásmicas de la cebada .....	18
2.3.2.3 Importancia de las proteínas durante el proceso de cervecería.....	19
2.3.3 Lípidos.....	20
2.3.4 Otros constituyentes del grano de cebada .....	21
2.4 Malteo.....	21
2.4.1 Operaciones previas.....	22
2.4.2 Remojo .....	23
2.4.3 Germinación .....	25
2.4.4 Secado .....	28
2.4.5 Molienda y eliminación de raicillas .....	30
2.5 Bioquímica del proceso de malteo.....	30
2.6 Enzimas implicadas en el proceso de malteo.....	32
2.7 Parámetros de calidad maltera.....	34
2.7.1 Extracto de malta.....	34
2.7.2 Poder diastásico .....	35
2.7.3 Nitrógeno soluble.....	36
2.7.4 $\alpha$ -Amilasa .....	36
2.7.5 Viscosidad del mosto.....	37
2.8 Radiaciones electromagnéticas.....	38

2.8.1 Microondas .....	39
2.8.1.1 Aplicación de microondas en alimentos.....	42
2.8.2 Infrarrojo .....	45
2.8.2.1 Aplicación de IR en alimentos .....	47
III. OBJETIVOS .....	51
3.1 Objetivo general .....	51
3.2 Objetivos específicos.....	51
IV. METODOLOGÍA .....	53
4.1 Materia prima .....	53
4.2 Métodos.....	53
4.2.1 Limpieza y selección del grano.....	53
4.2.2 Determinación de humedad del grano de cebada.....	53
4.2.3 Pruebas preliminares de tiempo de radiación.....	53
4.2.3.1 Energía de germinación.....	54
4.2.3.2 Calibración del horno de microondas .....	54
4.2.4 Tratamiento con radiaciones electromagnéticas .....	54
4.2.4.1 Irradiación con microondas.....	54
4.2.4.2 Irradiación con infrarrojo .....	54
4.2.5 Malteo.....	55
4.2.5.1 Remojo .....	55
4.2.5.2 Germinación .....	56
4.2.5.3 Secado .....	56
4.2.6 Molienda.....	56
4.2.7 Análisis de calidad maltera.....	56
4.2.7.1 Extracto de malta.....	56
4.2.7.2 Diferencia de extractos.....	57
4.2.7.3 Poder diastásico de malta .....	58
4.2.7.4 Actividad de $\alpha$ -Amilasa .....	58
4.2.7.5 Viscosidad del mosto.....	58
4.2.7.6 Nitrógeno total en grano, malta y soluble en mosto.....	58
4.2.8 Propiedades mecánicas del grano de cebada.....	59
4.2.9 Microscopía electrónica de barrido (SEM).....	59
4.2.9.1 Preparación de la muestra.....	59
4.2.9.2 Condiciones de operación del SEM.....	61
4.2.10 Grado de cristalinidad por Rayos X.....	61
4.2.11 Perfil de viscosidad.....	61
4.2.12 Extracción de las fracciones de proteínas.....	61
4.2.13 Determinación de prolaminas por electroforesis.....	62
4.2.14 Determinación de hordeínas por RP-HPLC.....	62
4.2.15 Determinación de $\beta$ -glucanos en mosto.....	63
4.2.16 Fibra soluble, insoluble y dietética total del grano de cebad.....	63

4.2.17 Reflectancia difusa de infrarrojo por transformada de Fourier.....	63
4.2.18 Análisis estadístico .....	64
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	65
5.1 Estudio preliminar del tiempo de radiación.....	65
5.2 Efecto de la irradiación sobre la calidad .....	66
5.2.1 Extracto de malta.....	66
5.2.2 Diferencia de extractos.....	70
5.2.3 Poder diastásico .....	71
5.2.4 Actividad de $\alpha$ -Amilasa .....	73
5.2.5 Viscosidad del mosto.....	75
5.2.6 Nitrógeno total malta y nitrógeno soluble en mosto.....	78
5.3 Efecto de la irradiación en las propiedades mecánicas del grano.....	81
5.4 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).....	86
5.5 Grado de cristalinidad del almidón medido por difracción de rayos X.....	92
5.6 Perfiles de viscosidad.....	96
5.7 Electroforesis de prolaminas del grano de cebada.....	98
5.8 Cromatografía líquida de alta resolución de hordeínas .....	106
5.9 Efecto de la irradiación sobre la fibra dietaria.....	109
5.10 Efecto de la radiación sobre $\beta$ -glucanos.....	111
5.11 Espectroscopía de infrarrojo. Reflectancia Difusa de Infrarrojo por transformada de Fourier (DRIFT) .....	115
VI. CONCLUSIONES .....	122
VII. LITERATURA CITADA.....	126

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro</b>		<b>Página</b>
1	Composición química del grano de cebada (Dendy y Dobraszczyk, 2004).	10
2	Parámetros y especificaciones de calidad maltera en cebada (NMX-FF-043-SCFI-2003).	23
3	Bandas de absorción de infrarrojo relevantes en el calentamiento de alimentos (Rosenthal, 1992).	47
4	Modificación de la malta de acuerdo a la diferencia de extractos (Figuroa, 1985).	57
5	Proceso de extracción de fracción de proteínas según su solubilidad.	62
6	Diferencia de extractos de malta de diferentes variedades de cebada irradiada <sup>†</sup> .	71
7	Poder diastásico de malta obtenida de diferentes variedades de cebada irradiada <sup>†</sup> .	72
8	Efecto de microondas e infrarrojo sobre la actividad de $\alpha$ -amilasa de malta de diferentes variedades de cebada <sup>†</sup> .	74
9	Contenido de nitrógeno de malta y mosto de cebada en función del tiempo de irradiación de microondas <sup>†</sup> .	80
10	Contenido de nitrógeno de malta y mosto de cebada en función del tiempo de irradiación de infrarrojo <sup>†</sup> .	81
11	Efecto del tiempo de irradiación de microondas e infrarrojo sobre las propiedades mecánicas entre cultivares de cebada <sup>†</sup> .	82
12	Efecto del tiempo de irradiación de microondas e infrarrojo sobre el módulo de elasticidad entre cultivares de cebada <sup>†</sup> .	85
13	Efecto del tiempo de irradiación con microondas e infrarrojo sobre la cristalinidad relativa del grano de cebada <sup>†</sup> .	92
14	Cambios en la viscosidad por efecto del tiempo de	96

	irradiación con microondas sobre dos cultivos de cebada <sup>†</sup> .	
<b>15</b>	Cambios en la viscosidad por efecto del tiempo de irradiación con infrarrojo sobre dos cultivos de cebada <sup>†</sup> .	97
<b>16</b>	Contenido de hordeína del cultivar Esmeralda después del proceso de extracción.	99
<b>17</b>	Tiempos de retención de la fracción de hordeína I.	109
<b>18</b>	Efecto de la radiación de microondas sobre la fibra dietética del grano de cebada <sup>†</sup> .	110

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
<b>1</b>	Planta de cebada madura (Departament of agriculture, 2004).	6
<b>2</b>	Cebada de dos hileras ( <i>Hordeum distichum</i> ), (Departament of agriculture, 2004).	7
<b>3</b>	Cebada de seis hileras ( <i>Hordeum hexastichum</i> ), (Departament of agriculture, 2004).	7
<b>4</b>	Grano de cebada y sus estructuras ( <a href="http://grain-gallery.com/barley/3d-renderings/">http://grain-gallery.com/barley/3d-renderings/</a> , 2011).	9
<b>5</b>	Micrografía del gránulo de almidón. ( <a href="http://braukaiser.com/wiki/index.php/Carbohydrates">http://braukaiser.com/wiki/index.php/Carbohydrates</a> , 2011).	11
<b>6</b>	Estructura química de la amilosa (Fennema, 2000).	11
<b>7</b>	Estructura química de la amilopectina (Fennema, 2000).	12
<b>8</b>	Cromatografía líquida de alta resolución con fase reversa de la muestra de cebada mutante Riso 56 (Alison y Bain, 1986).	16
<b>9</b>	SDS-PAGE de la secuencia de extracciones de las proteínas de cebada para cultivares Arapiles, Schooner y Galleon. Proteínas solubles en soluciones salinas línea (a) Arapiles, (b) Schooner, (c) Galleon, línea (d) hordeína Arapiles, (e) hordeína Schooner, (f) hordeína Galleon, línea (g) glutelína Arapiles, (h) glutelína Schooner (i) glutelína Galleon (Howard <i>et al.</i> , 1996).	17
<b>10</b>	Procesos bioquímicos en el grano de cebada durante el malteo. ( <a href="http://www.forest.ula.ve/~rubenhg/crecimiento_vegetal/">http://www.forest.ula.ve/~rubenhg/crecimiento_vegetal/</a> , 2011).	31
<b>11</b>	Esquema de distribución de las ondas electromagnéticas ( <a href="http://www.andor.com/learning/light/">http://www.andor.com/learning/light/</a> ).	39
<b>12</b>	Esquema de las partes de un horno de microondas convencional ( <a href="http://globalmicrowave.org/microwaves.php">http://globalmicrowave.org/microwaves.php</a> ).	40
<b>13</b>	Molécula bipolar movida por el cambio de signo de las microondas ( <a href="http://globalmicrowave.org/microwaves.php">http://globalmicrowave.org/microwaves.php</a> ).	42

<b>14</b>	Espectro electromagnético donde se muestran la región del infrarrojo y sus subregiones de infrarrojo cercano, medio y lejano (Did, 2004).	45
<b>15</b>	Equipo de infrarrojo empleado para irradiar las muestras de cebada.	55
<b>16</b>	Analizador de Textura Universal TA-XT2 y la sonda de aluminio empleada.	59
<b>17</b>	Granos de cebada preparado para SEM, (a) en un soporte de acrílico, (b) zonas donde se tomaron las micrografías.	60
<b>18</b>	Efecto del tiempo de irradiación con (a) microondas e (b) infrarrojo sobre la energía de germinación de la cebada. La línea azul indica el % de germinación y la roja el incremento de temperatura.	65
<b>19</b>	Efecto del tiempo de irradiación de microondas sobre el extracto de malta en las cuatro variedades de cebada. Letras diferentes en las barras representa que existen diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).	67
<b>20</b>	Efecto del tiempo de irradiación de infrarrojo sobre el extracto de malta en las cuatro variedades de cebada. Letras diferentes en las barras representa que existen diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).	69
<b>21</b>	Efecto de la irradiación de microondas sobre la viscosidad del mosto. Letras diferentes en las barras representa que existen diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).	77
<b>22</b>	Efecto de la irradiación de infrarrojo sobre la viscosidad del mosto. Letras diferentes en las barras representa que existen diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).	78
<b>23</b>	Curva típica del desplazamiento de fuerza de la variedad Esmeralda con tratamiento de microondas: A (0 seg), B (4 seg), C (8 seg) y tratadas con IR: D (0 seg), E (37 seg), F (54 seg). La línea continua es la carga y la línea punteada la descarga.	83

La zona de gris oscura es el trabajo elástico y la zona gris claro es el trabajo plástico.

<b>24</b>	Correlación entre la dureza del grano y el porcentaje de extracto de las diferentes maltas.	84
<b>25</b>	Micrografías de la cascarilla del grano de una cebada maltera y otra forrajera, siendo (A) Esmeralda y (B) Pastor Ortíz.	87
<b>26</b>	Micrografías de los gránulos de almidón después de la etapa de remojo de Esmeralda irradiada con microondas: a (0 seg), b (4 seg) y c (8 seg).	89
<b>27</b>	Micrografías de los gránulos de almidón después de la etapa de remojo de Esmeralda irradiada con infrarrojo: a (0 seg), b (37 seg) y c (54 seg).	91
<b>28</b>	Difractogramas de rayos-X de granos de cebada irradiados con microondas. El difractograma negro corresponde al control, rojo a 4 seg y azul a 8 seg.	94
<b>29</b>	Difractogramas de granos de cebada irradiados con infrarrojo. El difractograma negro corresponde al control, rojo a 37 seg y azul a 54 seg.	95
<b>30</b>	Electroforesis SDS de las fracciones de hordeína de granos de la variedad Esmeralda. Harina de cebada (carril a), Fracción de Hordeína control I (carril b), control II (carril c), tratamientos con microondas: 4 seg I (carril d), 4 seg II (carril e), 8 seg I (carril f), 8 seg II (carril g) y tratamiento con infrarrojo: 37 seg I (carril h), 37 seg II (carril i), 54 seg I (carril j). * I y II son las fracciones dependiendo de la solución usada (2-propanol 55% y 2-propanol 55% + $\beta$ -mercaptoetanol 0.6% respectivamente).	100
<b>31</b>	Efecto de la irradiación con microondas e infrarrojo sobre la fracción de hordeína D. Harina (harina del grano de cebada), I (hordeína I) y II (hordeína II).	102
<b>32</b>	Efecto de la irradiación con microondas e infrarrojo sobre la fracción de hordeína C. Harina (harina del grano de cebada), I	103

	(hordeína I) y II (hordeína II).	
<b>33</b>	Efecto de la irradiación con microondas e infrarrojo sobre la fracción de hordeína B. Harina (harina del grano de cebada), I (hordeína I) y II (hordeína II).	105
<b>34</b>	Cromatograma de la fracción de hordeína I de la variedad Esmeralda, para tratamientos con microondas. Cromatograma negro (control), rojo (4 seg) y azul (8 seg).	107
<b>35</b>	Cromatograma de la fracción de hordeína I de la variedad Esmeralda, para tratamientos con infrarrojo. Cromatograma negro (control), rojo (37 seg) y azul (54 seg).	108
<b>36</b>	Efecto de la irradiación de microondas sobre el contenido de $\beta$ -glucanos en el mosto.	112
<b>37</b>	Efecto de la irradiación de infrarrojo sobre el contenido de $\beta$ -glucanos en el mosto.	114
<b>38</b>	Espectros de infrarrojo medio de la variedad Esmeralda a los diferentes tratamientos. Tratamiento con microondas (A) e infrarrojo (B); Espectro negro corresponde al control, verde (4 seg), morado (8 seg), rojo (37 seg) y azul (54 seg).	117
<b>39</b>	Espectros de infrarrojo medio de la variedad Esmeralda a los diferentes tratamientos, mostrando detalles en carbohidratos. Tratamiento con microondas (A) e infrarrojo (B); Espectro negro corresponde al control, verde (4 seg), morado (8 seg), rojo (37 seg) y azul (54 seg).	118
<b>40</b>	Espectros de infrarrojo medio de la variedad Esmeralda a una longitud de onda ampliada en la región de proteínas. Tratamiento con microondas (A) e infrarrojo (B); Espectro negro corresponde al control, verde (4 seg), morado (8 seg), rojo (37 seg) y azul (54 seg).	119

# I.INTRODUCCIÓN

El uso industrial y doméstico de las microondas se ha incrementado en las últimas décadas. Las microondas tienen mucho potencial en los procesos de producción tales como calentamiento, descongelamiento, cocción, secado y expansión. Hoy la industria alimentaria ha empezado a utilizar la energía de microondas, sobre todo en el secado de pasta y posthorneado de galletas (Vadivambal y Jayas, 2007). Las microondas se han hecho populares en los hogares para la preparación de palomitas de maíz (Pondesimo *et al.*, 1990; Gökmen, 2004). Recientes mejoras en el diseño de hornos de microondas de alto poder han reducido costos en la manufactura de equipos y costos en energía eléctrica, por lo cual ofrece un potencial de nuevos desarrollos y eficientización de los procesos industriales (Vadivambal y Jayas, 2007). En el campo de la agricultura, la energía de microondas ha sido usada para el secado y cuidado de maíz fresco recién cosechado (Dolinska *et al.*, 2004). La irradiación de microondas también es una alternativa a la utilización de la fumigación química para la reducción significativa del deterioro del grano por las plagas de insectos (Warchalewski y Gralik, 2010). Recientemente Rodríguez (2010) y Hernández (2011) reportaron el uso de microondas para el mejoramiento de la calidad de masa y tortilla de maíz, así como de la calidad panadera respectivamente.

El calentamiento de infrarrojo (IR) provee ventajas significativas sobre el calentamiento convencional, incluyendo reducción de los tiempos de calentamiento, calentamiento uniforme, reducción de la pérdida de calidad, ausencia de migración de solutos en el alimento, versatilidad, simplicidad y equipos compactos y un significativo ahorro de energía. El calentamiento de infrarrojo puede ser usado en varios procesamientos de alimentos, secado, horneado, tostado, cocción, escaldado, pasteurización y esterilización. La combinación de infrarrojo con microondas u otros métodos convencionales de calentamiento pueden ser una buena alternativa en el área de secado (Kathiravan *et al.*, 2008). Sin embargo una de las desventajas es que tiene penetración menor a las microondas, esto puede prolongar los tiempos y producir daños en materiales biológicos, pero es una energía de menor costo y de práctica aplicación.

Existen pocos reportes del uso de estas técnicas de calentamiento en procesamiento de granos, tampoco se ha aprovechado su potencial para mejorar granos y semillas, porque la mayoría de los trabajos han usado tiempos prolongados de calentamiento que solo producen efectos adversos en los granos y la calidad, además de que no existe mucha literatura acerca de la explicación teórica de los efectos de microondas e infrarrojo, especialmente en lo que respecta a la interacción de estos tipos de energía con los componentes del alimento (Kathiravan et al., 2008; Vadivambal y Jayas 2007)

Por otra lado, la cebada (*Hordeum vulgare* L.) es un cereal de gran importancia tanto a nivel mundial como nacional por su uso como forraje y en la producción de cerveza y whisky. La cebada se clasifica en cebada maltera y forrajera, y a diferencia de otros granos se comercializa en México con un precio diferencial por calidad. En lo que se refiere al mejoramiento del grano de cebada actualmente el proceso más empleado es el genético, el cual requiere de varias generaciones para incorporar la calidad apropiada a la cebada para la industria, este proceso implica costos en la siembra y cosecha de cada nueva generación hasta que se logra la variedad más adecuada.

Algunos autores sugieren que la aplicación de calentamiento a los granos de cereales produce cambios en almidón, proteína, fibra dietaría y disminución de la viscosidad (Svanberg et al., 1997; Fasina, et al., 2001; Velu et al., 2006; Rodríguez, 2011), estos cambios bien dirigidos darían lugar en el grano de cebada a mejores propiedades como cebada maltera. Una nueva alternativa planteada en la presente investigación es modificar físicamente el grano de cebada forrajera o maltera por medio de irradiación de microondas e IR para incrementar su calidad industrial. Con lo anteriormente plasmado, el objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos de la irradiación con microondas e IR sobre las propiedades mecánicas, calidad maltera y cambios en algunos componentes bioquímicos del grano de diferentes variedades de cebada.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Generalidades de la cebada

La cebada es uno de los cereales que se ha cultivado desde la antigüedad y por ello el origen geográfico exacto de la cebada está sujeto a debate. Los estudios arqueológicos han revelado que el cultivo de cebada de dos hileras apareció desde hace 8,000 años a. C. en lo que hoy se conoce como Irán y la cebada de seis hileras apareció alrededor de 6,000 años a. C. en Asia Menor, convirtiéndose en uno de los primeros cultivos domesticados. Sin embargo, otra evidencia indica que la cebada que hoy conocemos existió y fue usada por lo menos hace 17,000 años en el valle del río Nilo en Egipto (Wendorf *et al.*, 1979). Se cree que los habitantes de las tierras fértiles de Oriente Medio comenzaron primeramente a recoger los granos de las plantas silvestres que crecían de forma natural y posteriormente comenzaron a recolectar y sembrar los granos de esta cebada silvestre. En Norteamérica, la cebada fue cultivada por vez primera por los colonos alemanes y españoles hacia el año 1602 (Harol *et al.*, 1987).

La cebada es un cultivo anual de estación corta y de maduración temprana, famoso por su tolerancia a una amplia gama de condiciones adversas, incluyendo el frío, la sequía y los suelos salinos y alcalinos (Isla, 1998). Prospera en un rango ambiental mucho más amplio que cualquier otro cereal, en climas desde el subártico hasta el subtropical (Poehlman, 1985). Las principales áreas de producción de cebada en el mundo incluyen a Australia, Canadá, la Unión Europea, el Medio Oriente, la ex Unión Soviética y los Estados Unidos de Norte America.

Dada la amplia distribución geográfica de la cebada y su adaptabilidad única, existen miles de formas de este grano. Una de las distinciones más básicas se establece entre la cebada de dos hileras y la de seis hileras, se difieren con respecto a la organización física de los granos en la inflorescencia. Además, la cebada a menudo se caracteriza por el tipo maltero o por el tipo forrajero,

refiriéndose a la intención del uso o destino del producto. También se le describe como cubierta o desnuda, dependiendo de la presencia o no de cobertura externa en los granos. Finalmente, existen cientos de variedades distintas combinando diversas características físicas y agronómicas (Departament of Agriculture, 2004).

El principal uso industrial que se ha dado a la cebada es para la elaboración de malta (cebada germinada y tostada). Aunque son varios los granos de cereal que pueden ser satisfactoriamente malteados, los de cebada son los que generalmente presentan menos problemas técnicos. El maíz y la avena se utilizan muy pocas veces para malteo porque poseen un mayor contenido de grasas y lo que provoca problemas de rancidez. Por su parte el trigo durante la germinación desarrolla microorganismos en la superficie del grano lo que propicia problemas durante el malteo (Hough, 1990). La malta producida a partir de la cebada puede ser empleada principalmente para la elaboración de cerveza, whisky, ginebra y vinagre. Otro uso de la malta es como potenciador de sabor y color, en café y pan (Walker y Westwood, 1991). En el transcurso de los años, se ha ido imponiendo, prácticamente en todo el mundo, el aroma de las cervezas elaboradas a partir de cebada malteada en comparación con aquellas cervezas elaboradas con otros cereales. Además, la cebada utilizada para la elaboración de malta destinada a la producción de cerveza es rica en almidón, que es la sustancia que da origen al extracto fermentescible. También el grano de cebada contiene proteínas, generalmente en cantidades más que suficientes para proporcionar los aminoácidos necesarios para el crecimiento de la levadura, y las sustancias nitrogenadas que desarrollan un papel importante en la formación de espuma (Hough, 1990).

Otros usos no relacionados con el malteo incluyen alimentos para animales, productos de consumo humano y otras aplicaciones industriales. El interés por la cebada como alimento para animales y humano se debe a su alto contenido de fibra dietética total y fibra dietética soluble. Aproximadamente de 80 a 90% de la producción de cebada en algunos países es empleada para la alimentación de animales (Tremere y Bhatti, 1989). También de la cebada se

obtiene almidón, el cual es empleado en la industria textil, del papel, síntesis de polímeros y en alimentos como en confitería (Munck, 1993).

## **2.2 Botánica**

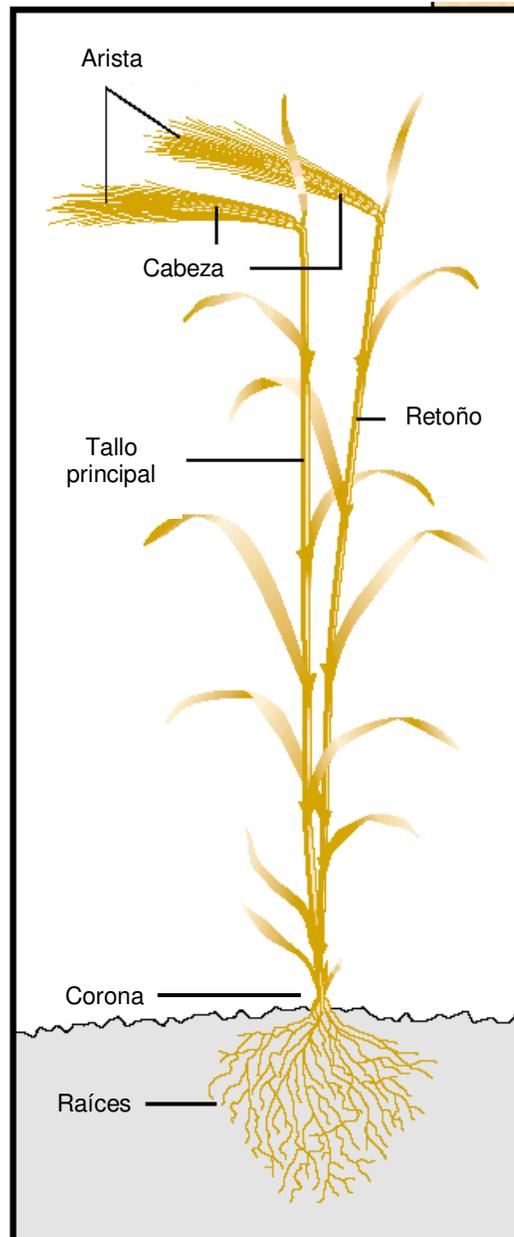
### **2.2.1 Taxonomía**

Se conocen muchas variedades botánicas de cebada a las que se les ha dado el nombre científico de *Hordeum vulgare* L., pertenece a la familia: *gramínea*, clase: *Monocotyledoneae*, género: *Hordeum* (Belitz y Grosh, 1997; Dendy y Dobraszczyk, 2004). La cebada es una monocotiledonea de la familia gramínea anual, puede sembrarse en otoño o en primavera, debido a que sus requerimientos de suelo, agua y temperatura son mínimos (Harol *et al.*, 1987).

### **2.2.2 Anatomía de la cebada**

La planta de cebada suele tener un color verde más claro que el trigo y en los primeros estadíos de su desarrollo. La planta de trigo a diferencia de la cebada suele ser más erguida. La cebada tiene presencia de tallos secundarios o retoños, que surgen de la base de los tallos primarios. Antes de la floración, sin embargo, el tallo se alarga aumentando la longitud de los entrenudos (Figura 1).

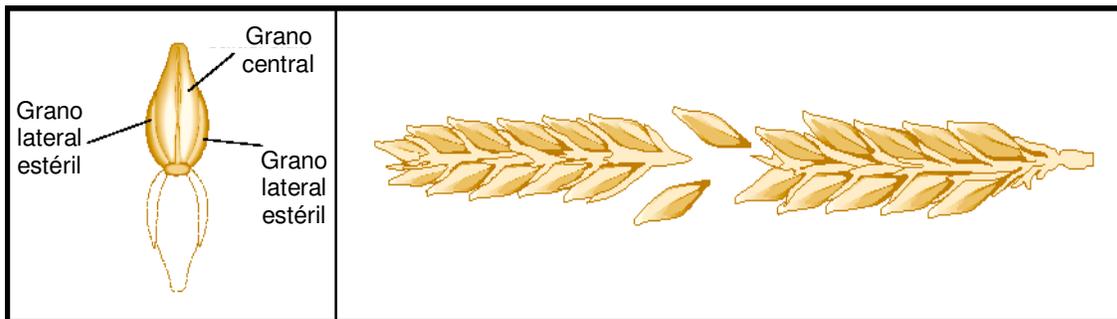
La espiga (inflorescencia) se pone finalmente de manifiesto, cuando la hoja más alta se enrolla. Durante este desarrollo en superficie, las raíces originales se ramifican y crecen. El sistema radical se ve complementado por raíces adventicias que se desarrollan en la base de los tallos. Esta extensión del sistema radicular permite a la planta absorber agua y sales minerales en una zona amplia, a una profundidad máxima de dos metros, además de proporcionarle un excelente anclaje (Hough, 1990). Los granos a menudo terminan en apéndices semejantes a cerdas denominadas aristas (Hough, 1990; Department of Agriculture, 2004).



**Figura 1.** Planta de cebada madura (Departament of Agriculture, 2004).

Las variedades modernas de cebada tienen tallos relativamente cortos entre 60-90 cm. Las cebadas de invierno suelen crecer de un modo limitado durante los meses más fríos y aumentar de longitud durante el verano (Hough, 1990). Cada inflorescencia tiene un eje. De cada nudo surgen tres flores simples agrupadas a un mismo lado del tallo. En el nudo siguiente el agrupamiento se produce al lado opuesto. Por tanto, si se mira verticalmente, de arriba abajo, sobre

el eje de la flor se ven seis filas de flores. Sin embargo, en algunas variedades aunque todas las flores sean fértiles, en otras sólo genera fruto la flor que ocupa la posición central de las tres (Hornsey, 1999). Así podemos distinguir las cebadas cultivadas por el número de espiguillas. Si queda solamente la espiguilla intermedia, mientras abortan las laterales, tendremos la cebada de dos hileras (*Hordeum distichum*) (Figura 2), si se desarrollan las tres espiguillas, tendremos la cebada de seis hileras (*Hordeum hexastichum*) (Figura 3).



**Figura 2.** Cebada de dos hileras (*Hordeum distichum*), (Departament of Agriculture, 2004).



**Figura 3.** Cebada de seis hileras (*Hordeum hexastichum*), (Departament of Agriculture, 2004).

En ocasiones, cuando la separación entre las flores es demasiado grande, los granos laterales de estas últimas variedades de seis carreras o hileras pueden producir solapamiento entre granos y dar la sensación de una espiga de cuatro hileras. También se conoce una forma mutante en la que las flores centrales son estériles y las laterales fértiles, dando, en consecuencia, espigas de cuatro hileras (Parrsons, 1999).

La cebada de dos hileras produce granos más grandes y uniformes, más redondeados y con cubiertas más finas. La cebada de seis hileras produce granos más irregulares en tamaño, a causa del menor espacio disponible para crecer correctamente, siendo más delgados los laterales y con el extremo distal curvado (Callejo, 2002).

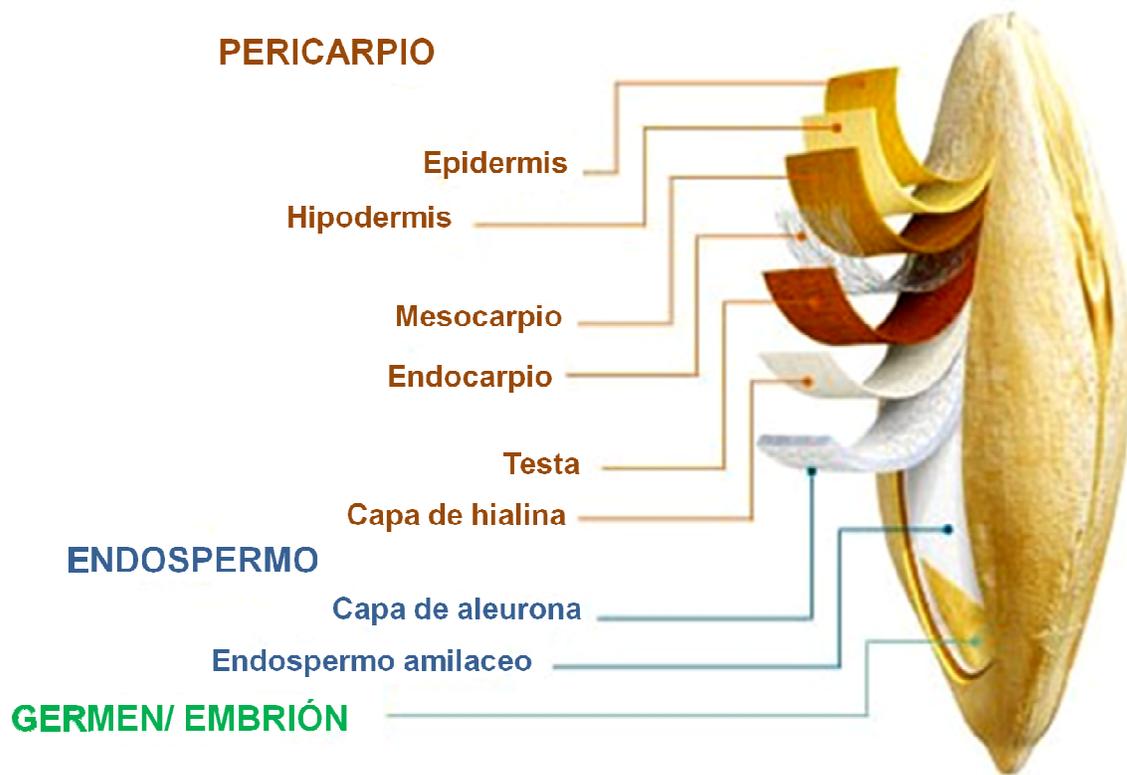
### **2.2.3 Fisiología del fruto**

El fruto de la cebada y de otras gramíneas se clasifican botánicamente como carióspside o grano. Los granos de cebada se componen de una parte externa constituida por unas capas secas y duras de naturaleza lignocelulósica, las cuales protegen el grano, denominadas glumas y glumillas que son estructuras florales en forma de hoja que encierran a las carióspsides de los cereales (Hough, 1990). Las cubiertas más externas forman el pericarpio, que se subdivide en epicarpio, mesocarpio y endocarpio.

El pericarpio protege a la semilla, formada por germen y endospermo y rodeada por su propia envoltura (Figura 1). Otra parte del grano es la testa o envoltura de la semilla. La capa más externa del endospermo, de naturaleza proteica, se denomina capa de aleurona (MacGregor y Batty, 1996).

El endospermo puede ser vítreo o amiláceo. En el endospermo vítreo, no existen espacios de aire y los gránulos de almidón están bien recubiertos por la matriz proteica, por lo que adquieren formas angulares. Esta estructura tiene apariencia vítrea o traslúcida debido a que la luz no es difractada cuando pasa a través del endospermo. El endospermo amiláceo se encuentra encerrado en el vítreo. Contiene las mismas estructuras del endospermo vítreo, pero las unidades de almidón son de mayor tamaño y menos angulares; la asociación entre los gránulos de almidón y la matriz proteica es más débil y en general tiene menos contenido de proteína que el vítreo (Serna, 2001). El endospermo del grano de

cebada es rico en nitrógeno (1.4-1.8% peso seco), el cual se encuentra en forma de proteína enzimática y proteína de reserva (Hornsey, 1999).



**Figura 4.** Grano de cebada y sus estructuras (<http://grain-gallery.com/barley/3d-renderings/>, 2011).

### 2.3 Composición química del grano de cebada

La composición química media de la cebada se muestra en el Cuadro 1; los nutrientes mostrados se encuentran expresados en base seca, por lo tanto el contenido de humedad de la cebada puede variar de 10 a 14% (Callejo, 2002; Dendy y Dobraszczyk, 2004).

**Cuadro 1.** Composición química del grano de cebada (Dendy y Dobraszczyk, 2004).

Nutriente	Contenido (%)
Hidratos de carbono	72.8-82.8
Almidón	50.0-63.0
Azúcares	1.8-2.0
Fibra bruta	5.0-6.0
Proteína	7.5-15.6
Materia inorgánica	2.0-3.1
Lípidos	1.1-3.1
Otras sustancias	1.0-2.0

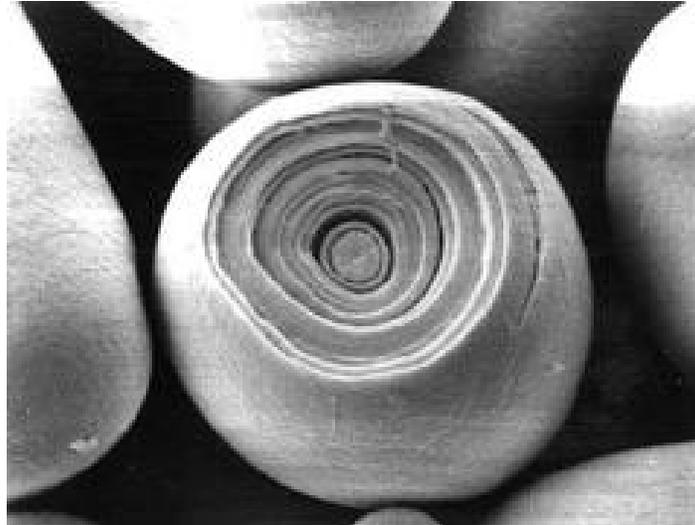
### 2.3.1 Hidratos de carbono

En las plantas los carbohidratos representan la mayor reserva de energía. Los carbohidratos simples son inmediatamente utilizados para energía por medio de las vías metabólicas y los carbohidratos complejos son reservados para posteriores requerimientos metabólicos. Otra de las funciones de los carbohidratos en las plantas es el mantenimiento de los tejidos estructurales (MacGregor y Batty, 1996). Se pueden dividir los carbohidratos de origen vegetal en dos partes:

#### A) Carbohidratos no estructurales

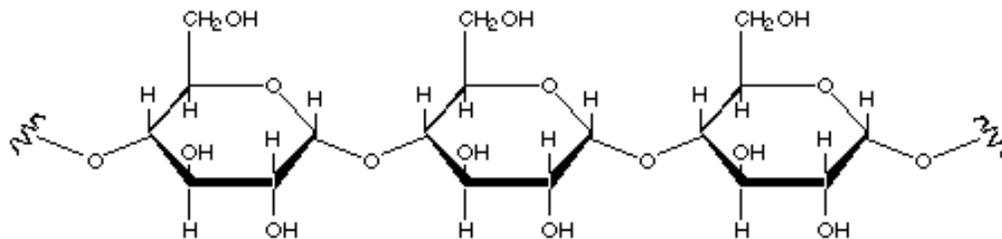
**Almidón:** es el principal constituyente y por lo tanto de mayor importancia. Depositado en gránulos en las células del endospermo, en las cebada malteras el contenido de almidón es de aprox. 65%. En la cebada estos gránulos (Figura 5) se clasifican según su tamaño en grandes (10 a 25 $\mu$ m) y pequeños (1 a 5 $\mu$ m) de forma esférica. Todos los gránulos de almidón se encuentran envueltos dentro de una matriz proteica. El almidón es mínimamente hidrolizado durante la germinación de la cebada, solamente un 10 a 15% del total, del que la mayoría pasa a ser consumido por el embrión en su respiración. Esto sucede principalmente en los gránulos de almidón pequeños, ya que son degradados más rápidamente que los gránulos grandes y sustancialmente desaparecen durante el malteo (Lewis y Young, 2002). El contenido en azúcares solubles aumenta en un

4-5%. Químicamente el almidón es un polímero de glucosa, constituido por amilosa y amilopectina (Callejo, 2002).



**Figura 5.** Micrografía del gránulo de almidón.  
(<http://braukaiser.com/wiki/index.php/Carbohydrates>, 2011)

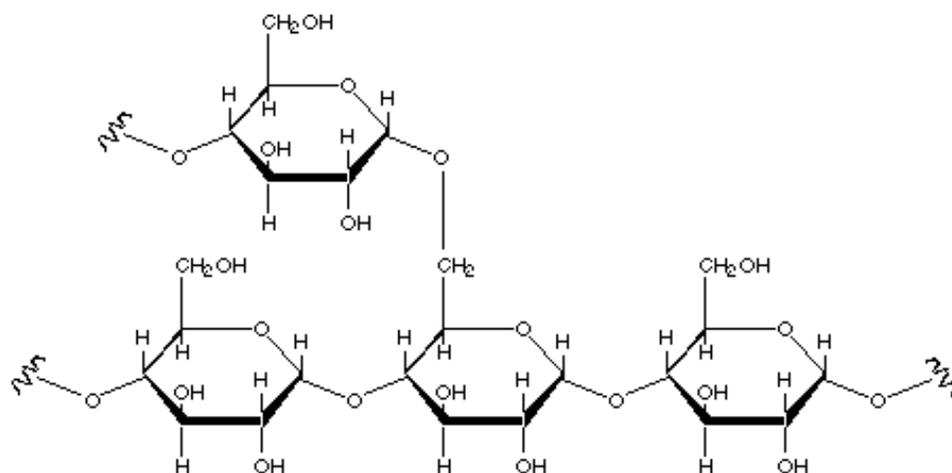
**Amilosa:** es un polímero lineal formado por unidades de D-glucosa que se unen mediante enlaces  $\alpha$  (1 - 4), (Figura 6).



**Figura 6.** Estructura química de la amilosa (Fennema, 2000).

La amilosa ocupa de 20-25% del almidón total. La amilosa puede ser hidrolizada completamente a maltosa por la acción combinada de  $\beta$ -amilasa y otras enzimas denominadas isoamilasas.

**Amilopectina:** se trata de un polímero ramificado compuesto también por unidades de D-glucosa, unidas por enlaces  $\alpha$  (1 - 4) en la cadena lineal y con ramificaciones unidas por enlaces  $\alpha$  (1 - 6), (Figura 7). La amilopectina representa el 75-80% del almidón de cebada (Banks y Greenwood, 1973).



**Figura 7.** Estructura química de la amilopectina (Fennema, 2000).

**Azúcares:** la cebada contiene cantidades significativas de azúcares simples y de oligosacáridos. Sin embargo, estos carbohidratos están presentes en tan bajas cantidades que son difíciles de determinar con alta precisión (MacGregor y Batty, 1996). Actualmente utilizando cromatografía líquida de resolución (HPLC) se ha mejorado la detección de pequeñas cantidades de azúcares en las muestras.

Los carbohidratos simples glucosa y fructosa están presentes en muy bajas concentraciones y se encuentran en el endospermo. La maltosa se encuentra en niveles bajos, algunas veces en las regiones adyacentes del endospermo, en el embrión y la capa de aleurona. Esto sugiere que la maltosa puede ser formada por la degradación del almidón provocada durante la germinación de la cebada. En pequeñas cantidades se presentan la galactosa y manosa durante el desarrollo de la cebada (La Berge *et al.*, 1973).

La rafinosa es el mayor de los oligosacáridos presentes en la cebada y se considera cerca de 25% de los carbohidratos de bajo peso molecular del grano. Más del 80% de este oligosacárido está en el embrión y su metabolismo es rápido durante los estados de germinación (MacGregor y Batty, 1996).

## **B) Carbohidratos estructurales**

La pared celular del endospermo comprende estructuras complejas como la hemicelulosa y gomas. Estos compuestos son químicamente similares que difieren primordialmente en el peso molecular y la solubilidad (Lewis y Young, 2002).

**Celulosa:** se localiza exclusivamente en las cubiertas, actuando como sustancia estructural y tiene interés como aporte de fibra dietética. La lignina es un componente importante de la cascarilla y de la paja. Como es lógico la cebada con cascarilla es más rica en fibra y en lignina que la cebada descascarillada o mondada (Serna, 2001). Es insoluble y no hidrolizable por las enzimas de la malta, carece de influencia en la calidad de la cerveza (Callejo, 2002).

**Gomas:** se trata de los  $\beta$ -glucanos y pentosanos o arabinosilanos que son solubles en agua caliente.

**Hemicelulosa:** se encuentra formando una rígida matriz en las paredes de las células del endospermo, es soluble en soluciones alcalinas. Esta constituida por:

- 80-90%  $\beta$ -glucanos
- 10-20% pentosanas

**$\beta$ -glucanos:** tienen un peso molecular entre 200,000 y  $4 \times 10^6$  Daltons formando una solución viscosa en agua fría, en agua caliente se pueden extraer más moléculas viscosas que en agua fría. Las moléculas solubles en agua son polímeros ramificados de glucosa unidas mediante enlaces  $\beta$  (1 - 3) y  $\beta$  (1 - 4), el

enlace dominante es  $\beta$  (1 - 4) (70%). Las moléculas grandes son secciones de unidades de glucosa con enlaces  $\beta$  (1 - 3) que no existen en componentes de bajo molecular. Se encuentran estrechamente unidos a la proteína en las paredes celulares del endospermo (Pollock, 1981; Lewis y Young, 2002).

Cuando están en solución, los  $\beta$ -glucanos se asocian mediante puentes de hidrógeno. Los  $\beta$ -glucanos pueden formar geles, con una implicación adversa sobre la filtración del mosto y cerveza (Vis y Lorenz, 1998; Callejo, 2002).

**Pentosanos:** son polímeros de xilosa unidos por enlaces  $\beta$  (1 - 4) y cadenas laterales de arabinosa unidos por enlaces  $\beta$  (1 - 3), parcialmente hidrolizadas durante la germinación y el malteado (Callejo, 2002). Estos polímeros tienen menos importancia en la producción y calidad de la cerveza en comparación con los  $\beta$ -glucanos.

### 2.3.2 Compuestos nitrogenados

La mayor parte de nitrógeno de la cebada está localizado en el endospermo como proteína de reserva y proteína enzimática. Durante el malteo, algunas modificaciones en las proteínas son necesarias para hacer más fácil la degradación del almidón durante el malteo. Solamente alrededor de la tercera parte de la proteína de la cebada pasa a la cerveza acabada y aunque la suma de proteína en la cerveza es relativamente pequeña, puede tener efecto importante sobre la calidad (Hornsey, 1999).

Las proteínas son compuestos que ocupan entre 8-13% de la materia seca total del grano de cebada; las características de solubilidad definen las proteínas de la cebada en albúminas, globulinas, prolaminas (hordeína) y glutelinas. Generalmente la cantidad de albúminas es relativamente baja (3-5% del total de proteína), y una considerable cantidad de globulinas (10-20% del total de proteína). Los componentes mayoritarios de la proteína total son las hordeínas

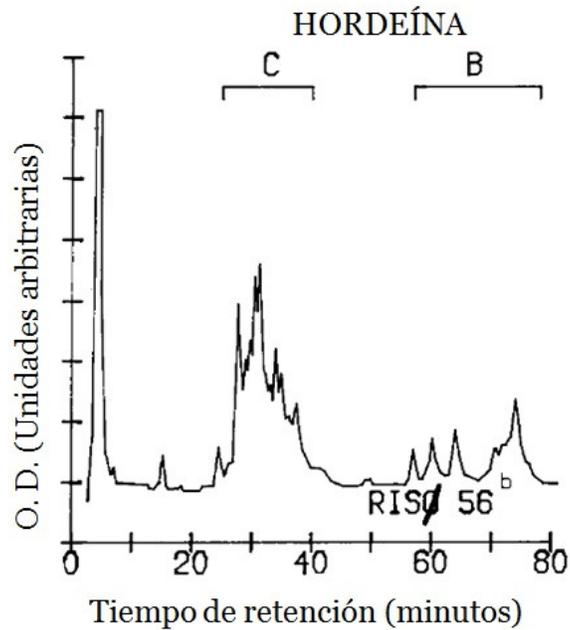
(35-45%) y glutelinas (35-45%). La distribución de las proteínas entre las diferentes fracciones depende de la variedad y también de las condiciones agronómicas (Anderson y Knie, 1975; Kirkman *et al.*, 1982). En las más recientes publicaciones las proteínas se clasifican de acuerdo a su papel biológico y uso. Así como en el trigo, en la cebada existen proteínas de almacenamiento (hordeínas y glutelinas) y proteínas citoplásmicas (metabólicamente activas) que son las albúminas y globulinas (Lásztity, 1996).

### **2.3.2.1 Proteínas de almacenamiento de la cebada**

#### **A) Proteínas debajo pero molecular**

Las proteínas de bajo peso molecular son las llamadas hordeínas, representan un grupo de proteínas extraídas con etanol al 70% o isopropanol al 55%. Trabajos de investigación en el campo de la bioquímica y genética también incluyen en el grupo de las hordeínas los polipéptidos obtenidos después de la reducción de los enlaces disulfuro de proteínas de almacenamiento de alto peso molecular (glutelinas), llamadas D-hordeínas. Las hordeínas son la mayor fracción de proteínas en la cebada y tienen gran influencia sobre la calidad tecnológica y nutricional de este grano (Baxter y Wainwright, 1979; Mifflin y Shewry, 1979).

La fracción de hordeínas extraíble de la cebada es una mezcla de diferentes proteínas. Varios métodos pueden ser usados para la separación de los subgrupos o componentes individuales. El método más poderoso para la separación es la electroforesis y la cromatografía líquida de alta resolución con fase reversa Figura 8 (Shewry *et al.*, 1978; Alison y Bain, 1986). Usando los métodos para la fracción de proteínas solubles en alcohol pueden ser separadas en 15 a 20 bandas de polipéptidos distintos. Los polipéptidos pueden ser clasificados de acuerdo a su peso molecular. La mayoría de las investigaciones distinguen un grupo B y C de las hordeínas. Un tercer grupo el menor peso molecular es mencionado como el grupo de las hordeínas A, este grupo es diferente en la composición de aminoácidos y particularmente soluble en soluciones salinas (Salcedo *et al.*, 1980).

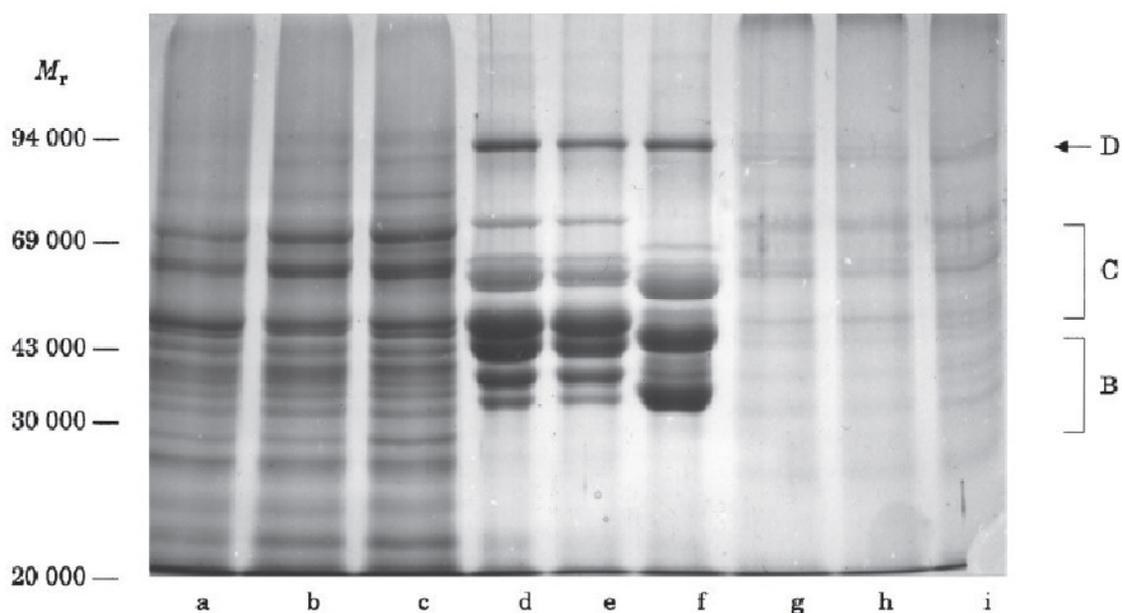


**Figura 8.** Cromatografía líquida de alta resolución con fase reversa de la muestra de cebada mutante Riso 56 (Alison y Bain, 1986).

El número y distribución de las bandas de electroforesis son características para cada variedad y por lo tanto pueden ser usadas para la identificación de variedades. Se han propuesto varios métodos de electroforesis para la identificación de variedades (Konarev *et al.*, 1976; Du Cros y Wrigley, 1979). Bietz (1981) reportó la electroforesis en gel de las hordeínas tratadas con beta-mercaptoetanol. La electroforesis PAGE mostró un patrón de bandas heterogéneo. Cuando se comparó con las gliadinas del trigo las hordeínas presentaban 3 bandas intensas correspondientes a  $\omega$ -gliadinas, 2 de 4 bandas débiles en la región de las  $\gamma$ -gliadinas, y de 4 a 5 bandas medias corresponden en movilidad a las  $\beta$ -gliadinas. La electroforesis SDS-PAGE reveló 5 bandas mayores de hordeína (Figura 9). El peso molecular aparente fue de 32, 38, 47.5, 53.2, y 65.6 kDa.

Los polipéptidos de la hordeína pueden ser divididos en dos grupos B y C. La hodeína B llamada también como hordeína rica en sulfuro debido a su alta cantidad de aminoácidos que contienen sulfuro. Este grupo de hordeínas están

presentes como una mezcla de monómeros con puentes disulfuro intramoleculares, pero estas proteínas también pueden formar agregados disulfuro (Field *et al.*, 1983). Usando electroforesis SDS-PAGE la fracción de hordeína B puede ser separada en varios componentes con peso molecular de 36 a 45 kDa. La fracción de hordeína B tiene alto contenido de prolina cerca del 20% y ácido glutámico de 30 a 35%.



**Figura 9.** SDS-PAGE de la secuencia de extracciones de las proteínas de cebada para cultivares Arapiles, Schooner y Galleon. Proteínas solubles en soluciones salinas línea (a) Arapiles, (b) Schooner, (c) Galleon, línea (d) hordeína Arapiles, (e) hordeína Schooner, (f) hordeína Galleon, línea (g) glutelína Arapiles, (h) glutelína Schooner (i) glutelína Galleon (Howard *et al.*, 1996).

Las hordeínas C (pobres en sulfuro) no contienen cisteína. Estas proteínas corresponden del 10-20% del total de las prolaminas de la cebada. La electroforesis SDS-PAGE de las fracciones de la hordeína C para diferentes cultivares de cebada revelan un número variable de bandas mayores con peso molecular entre 54 y 60 kDa. Bandas menores en algunos casos con bajo peso molecular de 49 kDa o alto peso molecular de 72 kDa. La composición de aminoácidos de la hordeína C es característica por su alto contenido en ácido glutámico y prolina, la fenilalanina también es alta (Lásztity, 1996).

## **B) Proteínas de alto peso molecular**

Las glutelinas son parte de las proteínas de almacenamiento de la cebada pero no han sido investigadas exhaustivamente como las glutelinas del trigo. Las proteínas de almacenamiento de alto peso molecular consisten en polipéptidos unido con enlaces disulfuro. Estas proteínas no son solubles en etanol, pero pueden ser extraídas con soluciones de hidróxido de sodio o soluciones de ácido. Aunque las proteínas de alto peso molecular pueden ser separadas en subgrupos usando cromatografía de gel o diferentes solventes, el estudio detallado de sus estructuras empieza con la división de los enlaces disulfuro por reducción y separación de los polipéptidos obtenidos (subunidades) cuando se usa electroforesis en gel. En cultivares europeos de cebada una subunidad sola podía ser observada en los electroferogramas si se usaba electroforesis SDS-PAGE. Una banda con movilidad rápida o algunas veces dos bandas podían estar presentes en otras líneas (Landry *et al.*, 1972; Shewry y Miflin, 1982). La composición de aminoácidos de las glutelinas de la cebada denota que son ricas en ácido glutámico y prolina, además son relativamente altas en el contenido de glicina (Lásztity, 1996).

### **2.3.2.2 Proteínas citoplásmicas de la cebada**

Las proteínas citoplásmicas de la cebada son llamadas comúnmente como albúminas y globulinas basadas en su solubilidad. La cantidad total de proteína soluble en soluciones salinas varía de un 10-35%. En algunos trabajos de investigación desarrollados por Rhodes y Gill (1981) reportaron que la porción total de proteínas solubles en soluciones salinas varía de 10.8-18% del total de proteína en un genotipo normal, pero en genotipos ricos en lisina el contenido puede variar de 17.7-33%. Ambas fracciones de proteínas albuminas y globulinas son heterogéneas y contienen muchos componentes polipéptídicos. Algunas publicaciones señalan una alta proporción de globulinas en las proteínas citoplásmicas (Simmonds, 1978). En otros trabajos se encontró que las albuminas representan una alta porción del total de proteínas de un 8-12% en comparación con las globulinas que representan de un 2-7% (Rhodes y Gill, 1981; Miflin y Shewry, 1979). La electroforesis de diferentes variedades muestra muchas

similitudes, pero diferentes características, como el peso molecular de estos componentes puede variar de 10-70 kDa. También se tiene que tomar en cuenta que muchas de las albúminas son componentes de enzimas (Almgard y Landegren, 1974; Wrigley *et al.*, 1982).

### **2.3.2.3 Importancia de las proteínas durante el proceso de cervecería**

Las proteínas pueden tener influencia importante en el aporte de turbidez. En cualquier caso, el extracto potencial a obtener de la malta disminuye con el aumento en proteína de la cebada, por lo que los requerimientos comerciales normalmente estipulan un máximo de 11.5% de proteína en materia seca en cebadas para cervecería.

Debido a la formación de turbidez en la cerveza, las sustancias nitrogenadas de la cebada se dividen en dos grupos:

**a) Proteínas:** compuestos nitrogenados de elevado peso molecular. Insolubles en soluciones acuosas, precipitan durante la cocción. La suma de proteínas disminuye durante el malteado y cerveceo porque es descompuesta enzimáticamente.

**b) Productos de degradación de la proteína:** se caracterizan por su solubilidad en agua, no precipitan durante la cocción. La cerveza acabada contiene casi exclusivamente productos de ruptura de la proteína: los de elevado peso molecular mejoran la estabilidad de la espuma pero pueden estar relacionados con la formación de turbidez. Los de bajo peso molecular, péptidos y aminoácidos, son nutrientes esenciales para las células de levaduras (Callejo, 2002).

Bajas cantidades de proteínas causan fermentaciones lentas, así como deficiencia de aminoácidos disponibles para la levadura durante la fase de

fermentación y en cerveza terminada originan inestabilidad en la espuma. El contenido de proteína en cebada es de 9.05 a 10.9 % (Analytica EBC, 2003).

### 2.3.3 Lípidos

Los lípidos o materia grasa, se encuentran en menor proporción en relación a otros constituyentes del grano de cebada. Sin embargo, estos constituyentes tienen mucha importancia desde el punto de vista de estabilidad y procesos metabólicos. Están presentes en el germen y la capa de aleurona de cebada y son ricos en ácidos grasos insaturados.

Aproximadamente, las dos terceras partes de estos lípidos son libres; el tercio restante son lípidos ligados a otros constituyentes proteicos o glucosídicos. Algo más de la mitad de los lípidos de los cereales son lípidos no polares, principalmente triglicéridos, así como diglicéridos y ésteres de esteroides y ácidos grasos libres. El resto, lípidos polares, son glicolípidos y fosfolípidos (Callejo, 2002).

Durante la elaboración de cerveza, la levadura empleada para la fermentación requiere de la presencia de lípidos para su crecimiento, sin embargo altas cantidades de lípidos en malta aportan turbidez en cerveza, incrementando el “*velo*” que son los precipitados insolubles causados por uniones de  $\beta$ -glucanos, proteínas y lípidos en cerveza (Meshehdani *et al.*, 1990).

Otros efectos adversos indeseables provocados por elevadas concentraciones de lípidos son la presencia de sabores “*rancios*” en malta, mosto y cerveza provocados por la oxidación de lípidos, así como la destabilización de la espuma de la cerveza, provocada por residuos de lípidos polares tales como los fosfolípidos (Holleman *et al.*, 1991).

### 2.3.4 Otros constituyentes del grano de cebada

**Monofenoles y polifenoles:** se encuentran en pequeñas cantidades en la cáscara, pericarpio y la capa de aleurona.

**Minerales:** los cereales son considerados como fuente importante de algunos minerales. En general el pericarpio, el germen y la capa de aleurona son ricos en éstos constituyentes. Representan entre el 2-3% de la materia seca del grano. De entre todos los minerales, destaca la presencia de potasio y de fósforo que constituyen el 50% de las materias minerales (Tabla 6). La mayor parte del fósforo de los cereales se encuentra en forma de fitatos. El fósforo de los fitatos de Ca y Mg es mal asimilado en el organismo y el ácido fítico se combina con numerosos iones disminuyendo la asimilación de los mismos (Multon, 1996). El hierro, zinc y el cobre están en el pericarpio, germen y en la capa de aleurona (Callejo, 2002).

**Vitaminas:** la cebada también posee vitaminas del grupo B; elementos vitales para la fermentación, las vitaminas se distribuyen en el embrión y la capa de aleurona (Hornsey, 1999)

## 2.4 Malteo

El objetivo de la industria maltera es la transformación de la cebada en malta para su uso en la industria cervecera. Varios son los motivos que justifican el empleo de cebada como materia prima principal para el proceso cervecero (Callejo, 2002):

- La cebada se cultiva desde la más remota antigüedad y que se adapta desde las más fértiles regiones hasta las más áridas.
- El elevado contenido en almidón del grano de cebada, que asegurará un buen rendimiento en extracto.

- La presencia de glumas y glumillas en el grano, tras la molienda, que van a tener una importante contribución, protegiendo al grano frente a posibles contaminaciones criptogámicas (enfermedad por hongos) superficiales y asegurando la distribución de agua por capilaridad sobre la superficie del grano, durante el malteo; actuando como lecho filtrante durante la filtración del mosto en el proceso cervecero.

- La tradición secularizada del proceso cervecero que desde sus orígenes utilizaban la cebada como materia prima básica (Callejo, 2002).

El malteo es un proceso fisicoquímico controlado durante el cual los granos desarrollan y activan sus sistemas enzimáticos y modifican sus reservas alimenticias. Su finalidad es la obtención de malta (Figuroa, 1985). La malta es la cebada parcialmente germinada, secada y tostada. La malta es una materia prima necesaria para la elaboración de cerveza, ya que confiere características de color, sabor y espuma por ello su elaboración exige controles rigurosos de tiempo y temperatura.

Las etapas del proceso de malteo son las siguientes:

- Operaciones previas
- Remojo
- Germinación
- Secado

#### **2.4.1 Operaciones previas**

El grano destinado al malteo debe cumplir con ciertos criterios, por ello se lleva a cabo la selección y limpieza del grano. Es una actividad cualitativa que se realiza con base en propiedades organolépticas de la cebada y consiste en comprobar si el grano posee el tamaño uniforme, si no contiene granos dañados, libre de materia extraña tales como semillas de malas hierbas o granos de otros cereales, etc. En México los parámetros de calidad para la cebada maltera se

encuentran establecidos en la norma NMX-FF-043-SCFI-2003, en dicha norma se hace referencia a propiedades fisicoquímicas de la cebada (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Parámetros y especificaciones de calidad maltera en cebada (NMX-FF-043-SCFI-2003).

Parámetro	Especificaciones
Humedad	Entre 11.5 a 13.5 %
Grano de tamaño para uso maltero	Contenido mínimo de 85% del total de la muestra.
Granos quebrados	Máx. 5.0%
Impurezas	Máx. 2.0%
Granos dañados	Máx. 10%
Germinación mínima	Mín. 85%
Mezcla de otras variedades	Máx. 10%
Peso hectolítrico	56 Kg/L (cebada de dos hileras) 58 Kg/L (cebada de seis hileras)
Olor	Característico del grano, sin olores extraños.
Residuos tóxicos	Sin residuos
Contaminantes o toxinas	Sin contaminantes tóxicos

El grano debe tener un color normal y no presentar signos de haber sido atacado por insectos o microorganismos. También importante es el olor en el cual se puede detectar alguna carga microbiana (Dendy y Dobraszczyk, 2004). Para realizar la limpieza el grano es cribado. El grano para uso maltero es aquel que es retenido en una criba de orificios oblongos de dimensiones de 2.18 mm x 19 mm (5.5/64 in x 3/4 in) de acuerdo a la norma mexicana NMX-FF-043-SCFI-2003. Posteriormente de la limpieza y la selección del grano se realizan pruebas de laboratorio entre ellas la determinación de humedad, la viabilidad de germinación (Callejo, 2002).

#### 2.4.2 Remojo

El objetivo del remojo es incrementar el contenido de humedad inicial del grano de cebada, que es de aproximadamente 10 a 13.5%, hasta una humedad de 40 a 45% (Analytical EBC, 2003). Esto se realiza para disolver por efecto del

agua las sustancias solubles que se encuentran en el grano y promover así el desarrollo del embrión (Figuroa, 1985). Aunque aparenta ser un simple paso encierra una variedad de procesos metabólicos que tienen un profundo impacto en la calidad final de la malta.

Diferentes propiedades del grano tienen influencia sobre la absorción de agua por ejemplo, el tamaño del grano, el contenido de almidón y proteína. En particular, los granos con bajo contenido de proteína tienden a absorber más rápidamente agua que aquellos que tienen mayor contenido de proteína (Molina-Cano *et al.*, 2002). En cuanto a los gránulos de almidón, los pequeños tienen una mayor capacidad de absorción, alrededor del 33%, mientras que la penetración de agua en los gránulos de mayor tamaño es más lenta (Bathgate, 1989). La variedad de cebada, la cantidad de muestra a remojar, la temperatura y el tiempo de remojo son factores que influyen también en la capacidad de absorción de agua (Briggs, 1998).

Durante el remojo la absorción de agua al interior del grano es rápida, aunque después desciende gradualmente; el embrión absorbe rápidamente agua, en cambio, el endospermo sufre una hidratación más lenta (Anderson *et al.*, 2000).

El remojo consta de dos fases importantes: los periodos de inmersión, suministro constante de agua, y los periodos de oxigenación, suministro de oxígeno. El oxígeno es necesario porque la respiración del embrión aumenta significativamente lo que crea una demanda importante de este gas en el agua de remojo (Fresh y McRuer, 1990), además es promotor de la formación de  $\alpha$ -amilasa; en ausencia de oxígeno, el embrión puede metabolizar anaeróbicamente las reservas, pero de un modo energéticamente poco eficaz, convirtiéndolas en dióxido de carbono (Wheith y Klaushofer, 1993).

Concentraciones elevadas de dióxido de carbono inhiben el desarrollo de la nueva planta, ya sea por asfixia o por la acumulación de compuestos, tales como ácido carbónico, etanol, ácido láctico y otras sustancias que se producen a

partir de la fermentación anaeróbica. La acción del bióxido de carbono es más intensa al principio del desarrollo del embrión que en las etapas subsecuentes; por tanto, una buena oxigenación durante el remojo implica una germinación vigorosa, contrario a lo que sucede con la cebada “asfixiada”, la cual requiere más tiempo para alcanzar niveles óptimos de germinación (Figueroa, 1985).

Conforme avanza el tiempo de remojo, la semilla de cebada incrementa su tamaño hasta 25 % y ocurre un ablandamiento de las células, así como la activación de enzimas presentes en el grano para iniciar el proceso de germinación.

Después del remojo, al agua empleada sufre una coloración debido a que la cebada puede contener materiales solubles y microorganismos que alteran el proceso, por ello es importante cambiar el agua de remojo por lo menos una vez durante todo el malteo (Anderson *et al.*, 2000).

La temperatura del agua de remojo próxima al límite fisiológico de la cebada (aprox. 40°C) debe evitarse, debido a la poca solubilidad del oxígeno en el agua a esta temperatura y al desarrollo de microorganismos. Por ello es preferible hacer remojo a temperaturas bajas próximas a 16 °C (Figueroa, 1985; Briggs, 1998), con una duración total de 2 a 3 días (Wolfgang, 1999; Dendy y Dobraszczyk, 2004).

Cuando el grano alcanza la humedad deseada se escurre el agua de remojo durante varias horas y, en ocasiones, se ayuda con ventilación descendente. En estos momentos se puede observar los primeros signos de germinación y normalmente se transfieren a una cámara de germinación aparte.

### **2.4.3 Germinación**

La germinación es un proceso bioquímico en el cual el grano comienza a acelerar sus actividades fisiológicas cuando se reúnen condiciones apropiadas de

humedad, temperatura y oxigenación. El principal objetivo de la germinación es generar nutrientes, principalmente azúcares y aminoácidos mediante la modificación del endospermo, la cual ocurre por el desarrollo, distribución y acción de enzimas ( $\alpha$  y  $\beta$  amilasas, proteasas, arabinoxilasas y  $\beta$ -glucanasas). Los compuestos obtenidos en la germinación serán utilizados por la levadura durante la elaboración de cerveza. La modificación del grano comienza en el extremo germinal y se continúa hacia el extremo distal.

Con el proceso de germinación lo que se desea es (Figuroa, 1985):

- 1) Que se activen y desarrollen suficientes enzimas para que haya una completa transformación del grano; en otras palabras, para que se tengan concentraciones suficientes de enzimas después del secado, que puedan efectuar una conversión adecuada de los sustratos en el macerador y proporcionen de esta manera las sustancias nutritivas para la fermentación del mosto por acción de la levadura.
- 2) Que el endospermo del grano se modifique completamente para obtener un máximo aprovechamiento del almidón y las proteínas que lo constituyen.
- 3) Obtener el máximo rendimiento de extracto y evitar las pérdidas atribuidas a la formación de plúmula y radícula, y las provocadas por el proceso de respiración.

La transformación de la cebada depende de factores como la cantidad y forma de distribución del agua dentro del endospermo amiláceo, la cantidad y capacidad de enzimas hidrolíticas y características estructurales del almidón a la degradación debido a la protección que le confieren  $\beta$ -glucanos y proteínas.

La germinación del grano es controlada mediante la estabilización de la humedad de la muestra (la cual debe mantenerse alrededor de 45%), con suministro de oxígeno, la eliminación del dióxido de carbono y la eliminación del

exceso de calor generado por la respiración de la semilla. Tradicionalmente la germinación se lleva a cabo a temperaturas entre 16 y 20°C, bajo este rango se obtiene un crecimiento eficiente en las raicillas de la cebada (MacGregor y Batty, 1996).

La actividad enzimática se manifiesta por la aparición de raicillas en un extremo y el avance por debajo de la cáscara de la acróspira o cotiledón (Castañe y Damm, 1997); el crecimiento del cotiledón y de raicillas de la cebada es conocido como desagregación, de acuerdo con el grado alcanzado en el proceso de transformación, se dice que las maltas son más o menos desagregadas, de esta forma, las maltas menos desagregadas, es decir, con tamaños de raicillas menores se emplean para la elaboración de cervezas claras (raicillas con 1.5 veces la longitud del grano), mientras que las maltas con grados mayores de desagregación son utilizadas para fabricación de cervezas de color oscuro: se aceptan raicillas con tamaños hasta dos veces la longitud del grano según Callejo (2002). La germinación alcanza su mejor etapa cuando el acróspiro o plúmula ha desarrollado de una a tres cuartas partes del tamaño del grano (Figuroa, 1985).

Al final del periodo de germinación se habrá degradado alrededor de 18 % de almidón y los granos se habrán hecho más ricos en azúcares solubles y en aminoácidos. Generalmente se producirá una pérdida de alrededor de 10% de la materia seca de los granos con relación a la cebada original por la pérdida de sustancias (0.5 a 1.5%). Estos materiales se pierden como dióxido de carbono y agua durante la propia respiración (5 a 6%) y a consecuencia del enraizamiento alrededor de 3 a 4% (Wolfgang, 1999; Dendy y Dobraszczyk, 2004). Una vez finalizada la germinación, el producto obtenido, conocido como “malta verde”, se puede someter a una corriente de aire estéril a 25°C para disminuir la humedad de la muestra y con ello reducir el riesgo de desarrollo de microorganismos (Galán *et al.*, 2004) debido a que un inadecuado control durante la germinación puede reducir la calidad de la malta. Sobre todo cuando se desarrolla contaminación por mohos o insectos (HGCA, 2002).

#### 2.4.4 Secado

En el proceso de malteo el secado es la etapa que determina la utilización posterior de la malta de acuerdo con las características fisicoquímicas logradas en ella, por ser la fase en la cual la malta verde, que ha alcanzado niveles óptimos en la transformación interna de los granos y en el desarrollo enzimático, si como también en las pérdidas por malteo, sufre nuevas transformaciones en su constitución y niveles enzimáticos (Figueroa, 1985; MacGregor y Batty, 1996; Agriculture Western Australian, 1997).

Los objetivos que se desean con el secado son:

- 1) acondicionar el grano para una molienda apropiada que proporcione altos rendimientos de sustancias extractables.
- 2) Estabilizar la actividad enzimática para el buen almacenamiento de la malta.
- 3) Desarrollar color, sabor y aroma.
- 4) Evitar el rompimiento y vitriosidad del grano.

El secado se caracteriza por requerir temperaturas que no impliquen la destrucción de las enzimas desarrolladas durante la germinación ( $\alpha$  y  $\beta$ -amilasas,  $\beta$ -glucanasas, proteasas y dextrinasas), debido a que estas enzimas son muy sensibles a la temperatura.

Los cambios en la malta son influenciados por la temperatura y humedad de la propia malta, y por el flujo de aire en el secado. Por ello es necesario controlar la temperatura y humedad del grano, para tener el máximo aprovechamiento de las características de porosidad y los altos niveles enzimáticos logrados en la germinación. Para lograr lo anterior, el grano se empieza a secar a bajas temperaturas a 35 °C iniciales, con un flujo de aire de 50 dm<sup>3</sup>/min/Kg de malta, por kilogramo de malta, e incrementando en el flujo en una

unidad por cada grado centígrado que aumenta la temperatura; así se evita la licuefacción del almidón, pues cuando esto ocurre se produce la hidrólisis del compuesto en maltosa y dextrinas por acción de diastasas, cuya temperatura óptima de actividad es de 60 °C; asimismo, la licuefacción ocasiona que el almidón gelatinizado y los subproductos resultantes obstruyan la porosidad en el grano, lo cual aumenta la cantidad de granos vítreos y la coloración y opacidad en sus mostos, esto último a causa de una disminución en su poder péptico, debido a la destrucción de enzimas proteolíticas. Las condiciones de secado son muy variadas y estas dependen de las características finales que se le quieran dar a la malta, las cuales van incrementando hasta llegar a temperaturas próximas a 75°C para la elaboración de maltas claras y temperaturas próximas a 100°C para maltas oscuras, sin embargo también existen procedimientos de secado a temperatura constante, como es el caso de la malta caramelo, la cual se trata a la temperatura más baja posible sin aumento de calor (Figueroa, 1985; Meilgaard, 1993; Anderson *et al.*, 1999). El secado puede durar entre 16 y 60 horas, dependiendo del tipo de malta a producir (Hornsey, 1999).

El principal cambio que se manifiesta durante el secado es el oscurecimiento de la malta debido a reacciones de Maillard. La reacción entre aminoácidos y azúcares puede seguir otras rutas químicas originando compuestos como las pirazinas, tiofenoles, pirroles y furanos que confieren características especiales a las maltas, como sabores típicos a tostado, café o caramelo. Las reacciones de Maillard se favorecen a temperaturas por encima de 60 °C. En maltas oscuras se debe inducir la formación de estos compuestos, mientras que en las maltas claras las condiciones de tostado han de ser más suaves para evitar su síntesis. Durante el secado, también se debe evitar que la malta se someta a muy altas temperaturas, debido a la producción de N-nitrosoaminas, las cuales pueden resultar carcinogénicas, por lo cual debe disminuir y/o evitarse su formación (Wainwright, 1986).

#### **2.4.5 Molienda y eliminación de raicillas**

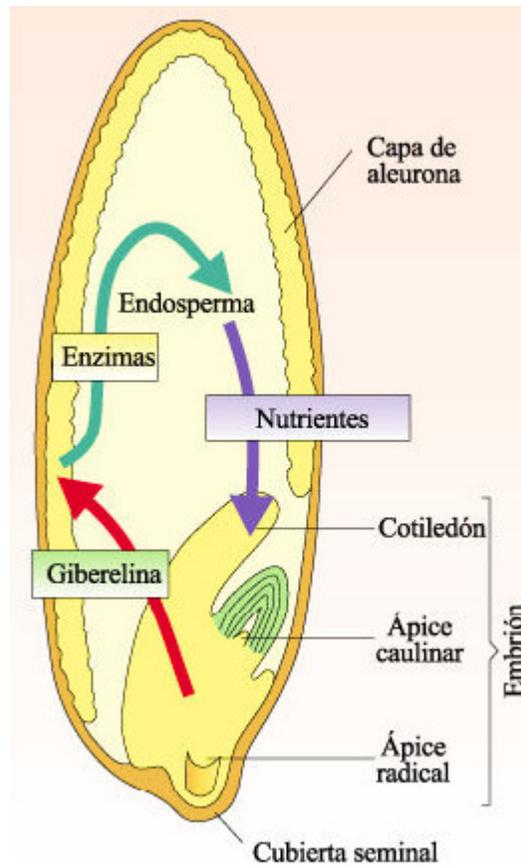
Consiste en desechar la mayor parte de raicillas formadas durante el malteo ya que no tienen una función importante en procesos posteriores; el peso de las raicillas supone de 3 a 5 % del peso total de la malta y se elimina por abrasión de la muestra, por agitación y por tamizado (Pelembé *et al.*, 2002).

Después de la eliminación de raicillas la malta es molida para que se someta al macerado, la molienda se realiza con el fin de conseguir una extracción adecuada de materias útiles, así como la producción de partículas de un tamaño que sea rápidamente atacado por las enzimas y posteriormente favorecer la filtración del mosto (Castañe y Damm, 1997). Las partículas no deben ser muy pequeñas, debido a que estas pueden causar problemas de drenado del mosto, en tanto que las partículas excesivamente grandes pueden afectar la enzimólisis de la malta, obteniendo velocidades de conversión lentas e incompletas (Hornsey, 1999).

### **2.5 Bioquímica del proceso de malteo**

Los procesos bioquímicos durante el malteo incluyen reacciones que implican citólisis, proteólisis y amilólisis; tales reacciones se describen a continuación (Hornsey, 1999; Bamforth, 2000; Callejo, 2002):

1. Durante el remojo. Comienza la entrada de agua hacia el interior del grano.
2. El grano de cebada contiene cantidades de  $\beta$ -amilasa latente en formas solubles e insolubles; durante el malteado, la  $\beta$ -amilasa se solubiliza por completo. En la Figura 10 se representan a *grosso modo* los procesos bioquímicos, aquí descritos, durante el malteado en el grano de cebada.



**Figura 10.** Procesos bioquímicos en el grano de cebada durante el malteo.

([http://www.forest.ula.ve/~rubenhg/crecimiento\\_vegetal/](http://www.forest.ula.ve/~rubenhg/crecimiento_vegetal/), 2011)

3. En el embrión ocurre una producción de ácido giberélico (AG), hormona vegetal natural, y giberelinas que se difunden hacia el endospermo. Una vez en el endospermo, el AG se propaga hacia el escutelo y la capa de aleurona; la producción de enzimas inicia en el escutelo y posteriormente continúa en el resto de la capa de aleurona (Ranki, 1990); ulterior a la activación enzimática se forman enzimas:  $\alpha$ -amilasa, endo  $\beta$ -glucanasas, pentosanasas y dextrinasas.
4. Después de dos días de germinación, finaliza la producción de giberelinas, precisamente la capacidad de las cebadas para producir enzimas hidrolíticas depende de la cantidad y la viabilidad de las giberelinas generadas (Kusada *et al.*, 1991). Los granos que presentan daños en la

parte del embrión son incapaces de producir giberelinas, por lo que se debe omitir su uso para la elaboración de maltas (MacGregor y Batty, 1996).

5. Las proteínas son degradadas parcialmente por las proteasas y peptidasas, liberando nitrógeno libre (FAN: Free Amino Nitrogen). La proteólisis de los granos es de gran importancia debido al FAN liberado, pues no sólo es necesario para el crecimiento de enzimas durante todo el proceso de germinación (Palmer, 1989). Los péptidos y el FAN obtenidos con la proteólisis también son requeridos para el crecimiento de la levadura durante la fermentación, por ello, una insuficiente degradación de proteínas provoca extractos pobres de malta (Taylor, 1991).
6. Finalmente el resto del almidón es degradado hasta la obtención de azúcares principalmente maltosa y glucosa, nutriendo el embrión para la posterior formación de raicillas en el grano.
7. Después de la hidrólisis del almidón ocurre un metabolismo denominado extracto de agua fría, el cual consiste en la formación de aminoácidos y azúcares durante la respiración, los cuales se manifiestan con la formación de raicillas y acróspira.

## 2.6 Enzimas implicadas en el proceso de malteo

La degradación de compuestos como el almidón, proteínas y otros polímeros para su conversión en nutrientes sencillos y necesarios para la germinación se lleva a cabo mediante reacciones enzimáticas específicas que implican principalmente la actividad de enzimas ya mencionadas anteriormente como:  $\alpha$  y  $\beta$ -amilasas, dextrinas, proteasas y  $\beta$ -glucanasa (Hornsey, 1999).

**Amilasas:** se trata de enzimas  $\alpha$  y  $\beta$ -amilasas encargadas de la degradación del almidón a dextrinas (sustancias químicamente intermedias entre

el almidón y monosacáridos) y azúcares sencillos, la actividad combinada de estas enzimas es conocida como poder diastásico (PD). En los procesos de elaboración de cerveza se requieren niveles de PD relativamente altos para obtener una conversión adecuada del almidón (Evans *et al.*, 1996).

La cebada sin maltear contiene cantidades considerables de  $\beta$ -amilasa latente, tanto en forma soluble como insoluble, esta enzima se solubiliza completamente durante el malteado; mientras que la  $\alpha$ -amilasa está ausente en la cebada y se desarrolla en las primeras fases de malteado (remojo y germinación).

La  $\beta$ -amilasa tiene una actividad dextrinógena, es decir, genera más cantidades de dextrinas, en tanto que  $\alpha$ -amilasa tiene una acción sacarogénica; es decir, completa la degradación del almidón hasta azúcares. Las temperaturas bajo las cuales estas enzimas son viables son entre 62 y 75°C (Wolfgang, 1999).

**Proteasas, pentosanasas y dextrinasas límite:** son enzimas encargadas de acelerar la degradación de proteínas y pentosanos respectivamente, estas enzimas al igual que la  $\alpha$ -amilasa también se generan durante el malteado gracias a la actividad del ácido giberélico.

**$\beta$ -D-glucanasa ( $\beta$ -glucanasa):** se trata de una enzima con peso molecular cercano a 20 000 unidades (Yin y Macgregor, 1989), se activan durante el malteado después de la formación de la  $\alpha$ -amilasa en el embrión de cebada (específicamente en la aleurona y el escutelo) y está implicada en la degradación de  $\beta$ -glucanos (Etokapkan, 1993; Ellis *et al.*, 1997; Hornsey, 1999; Knuckless y Chiu, 1999). La presencia de esta enzima en concentraciones elevadas se traduce directamente a una mejor calidad de la malta.

La cantidad y la capacidad enzimática de la  $\beta$ -glucanasa presente en la cebada depende principalmente de las propiedades genéticas de la variedad utilizada (Narasinhalu *et al.*, 1994; Zhang *et al.*, 2001). La  $\beta$ -glucanasa muestra su

mayor actividad en los días finales de malteado (Swanston *et al.*, 1994), posteriormente, durante la maceración, dicha enzima se vuelve a activar para desdoblar restos de  $\beta$ -glucanos, inactivándose a temperaturas por encima de los 45°C (Muller, 1995).

**Lipasa:** también conocida como triacilglicerol hidrolasa; se encarga de promover la ruptura de lípidos, específicamente triacilgliceroles para convertirlos en ácidos grasos. La lipasa se activa durante la germinación, siendo 37°C su temperatura óptima de actividad, se encuentra principalmente en el embrión y la aleurona, aunque existen cantidades considerables de esta enzima en el endospermo amiláceo y en la cascarilla de la cebada (Gaillard y Bowler, 1987).

Además de la lipasa, en la cebada existen pequeñas cantidades de fosfolipasas responsables de la ruptura de lípidos polares como los fosfolípidos, glicerofosfolípidos y eteroles (MacGregor y Batty, 1996).

## **2.7 Parámetros de calidad maltera**

### **2.7.1 Extracto de malta**

El extracto representa la cantidad de sólidos solubles que pasan del grano malteado al líquido de cocimiento y es el factor que mayor importancia tiene en el rendimiento industrial. Para el estudio del extracto es necesario considerar las condiciones de maceración que afectan las transformaciones fisicoquímicas del almidón contenido en el endospermo como son: el grado de molienda, dilución de la muestra, relación temperatura-tiempo y pH. Estas condiciones deben ajustarse para obtener actividades óptimas de las enzimas que actúan durante todo el proceso de maceración. El agua juega un papel importante en esta acción, debido a que es el disolvente de las sustancias solubles y el medio de transferencia térmica para lograr que las enzimas hidrolíticas transformen las sustancias insolubles en otras más simples, de una manera planificada y reproducible en los materiales estudiados (Figuroa, 1985).

La maceración de la malta permite producir un extracto fermentable que permita el crecimiento de la levadura, con la consiguiente producción de cerveza. La temperatura del agua a mezclar es crítica (Hornsey, 1999). El proceso de maceración empieza al formarse una pasta de malta molida con agua a 45 °C y agitación, de la cual se extraen las sustancias solubles. Las masas concentradas permiten en cierta medida la acción proteolítica y las diluidas la acción diastásica. Este periodo de peptonización dura 30 min además de liberarse los almidones y proteínas solubles, se activan las enzimas proteolíticas, proteinasa. La enzima peptidasa actúa también en esta etapa. Posteriormente se incrementa la temperatura a 70 °C, en el lapso del incremento de temperatura actúan las enzimas diastásicas  $\alpha$  y  $\beta$ -amilasa y actúan sobre los gránulos de almidón hinchado, reventándolos y dispersando las moléculas de amilosa y amilopectina a través del agua y convirtiendo estas en azúcares fermentables, maltosa y dextrinas (licuefacción). A 70 °C la licuefacción del almidón presenta la mayor conversión de azúcares fermentables. A esta temperatura se mantiene por una hora hasta que la conversión sea completa. Finalizada esta reacción las enzimas se encuentran inactivas y termina el proceso de transformación (Figuroa, 1985).

### **2.7.2 Poder diastásico**

El poder diastásico es la habilidad que tiene el grano malteado de transformar los almidones en azúcares reductores. Esta habilidad se estima con la velocidad de reacción de las enzimas que producen ciertas cantidades de azúcares por unidad de tiempo. La unidad de medida es el grado Lintner, la cual podemos transformar en equivalentes de maltosa. En la estimación del poder diastásico se está una refiriendo al conjunto de actividad de todas las enzimas amilolíticas, como son la  $\alpha$ -amilasa,  $\beta$ -amilasa, glucosidasa,  $\beta$ -glucanasa, citasas, entre otras (Figuroa, 1985). Las maltas con alto poder diastásico pueden ser requeridas para ciertas cervecerías, especialmente si estas usan una alta porción de adjuntos con almidón no malteado en los grits. El poder diastásico de la malta

está determinado por la interacción genética y ambiental de la cebada (Yin y MacGregor, 1989).

### **2.7.3 Nitrógeno soluble**

La evaluación del contenido de nitrógeno en la cebada es una medida indirecta de la cantidad de proteína presente en dicho cultivo. La mayor parte de nitrógeno de la cebada está localizado en el endospermo como proteína de reserva y proteína enzimática (Hornsey, 1999).

En el macerado parte de las proteínas de elevado peso molecular que no alcanzaron a hidrolizarse durante el malteado, se modifican por medio de las enzimas proteolíticas y forman compuestos más simples. Si el porcentaje de proteína es bajo, habrá poca cantidad de proteína modificada debido a una pobre peptonización, lo cual trae como consecuencia que la levadura tenga poco alimento y se efectúen fermentaciones deficientes y a la vez los mostos están propensos a enturbiarse. El método de determinación de proteínas soluble se basa en el análisis de los compuestos nitrogenados que se obtienen del extracto de malta (Figueroa, 1985).

### **2.7.4 $\alpha$ -Amilasa**

La  $\alpha$ -amilasa actúa sobre el almidón gelatinizado, licuando y rompiendo la capa de amilopectina en los enlaces glucosídicos a 1-4 y reduciendo las estructuras de dextrinas. La  $\alpha$ -amilasa es llamada enzima “dextrinogénica” por producir dextrinas; aunque muy lentamente puede ser capaz de producir de producir maltosa muy lentamente.

Los iones de calcio y sodio actúan como estabilizadores de la actividad de la  $\alpha$ -amilasa, además interaccionan con los fosfatos inorgánicos para establecer un sistema amortiguador que mantiene el pH aceptable; por ello, para valorar la

acción de las enzimas, específicamente de  $\alpha$ -amilasa, es conveniente estandarizar la temperatura, el pH y las sales reguladoras, a fin de conseguir resultados reproducibles. Contando con los factores mencionados antes como constantes y habiendo estandarizado un almidón soluble hasta dextrina límite mediante acción de la  $\beta$ -amilasa, se hidroliza este compuesto con  $\alpha$ -amilasa en presencia de yodo. Comparando el decremento de la intensidad del color con incrementos de tiempo de reacción en el rango lineal de la curva, se obtiene la actividad enzimática, la cual está en relación directa con la cantidad de  $\alpha$ -amilasa presente.

### 2.7.5 Viscosidad del mosto

La viscosidad en el mosto es causada por la presencia de  $\beta$ -glucanos y pentosanos, formados por la acción de la  $\beta$ -glucanasa sobre las paredes de las células endospermicas. Estos compuestos se disuelven o quedan suspendidos en los mostos, dependiendo de la acción modificadora de la  $\beta$ -glucanasa sobre la malta. En el último caso puede aumentar la viscosidad, lo que es causa de problemas en la filtración y en el almacenamiento de la cerveza por el mal aspecto que presenta el sedimento que forma (Figuroa, 1985).

La viscosidad es una propiedad de un fluido mediante la cual ofrece resistencia al corte. La viscosidad depende de las fuerzas de cohesión y la rapidez de la transferencia de cantidad de movimiento entre moléculas. En un líquido las fuerzas de cohesión son más grandes que en un gas debido a que las moléculas se encuentran más próximas entre sí. Al incrementarse la temperatura a un líquido, la cohesión disminuye y por lo tanto, también lo hace la viscosidad. Existen varias formas de medir la viscosidad de un líquido pero una de ellas es por medio de viscosímetros como el de Ostwald, el cual se basa en la ley de Poiseuille:

$$Q = \frac{V}{t} = \frac{\pi \Delta p R^4}{8 \eta l}$$

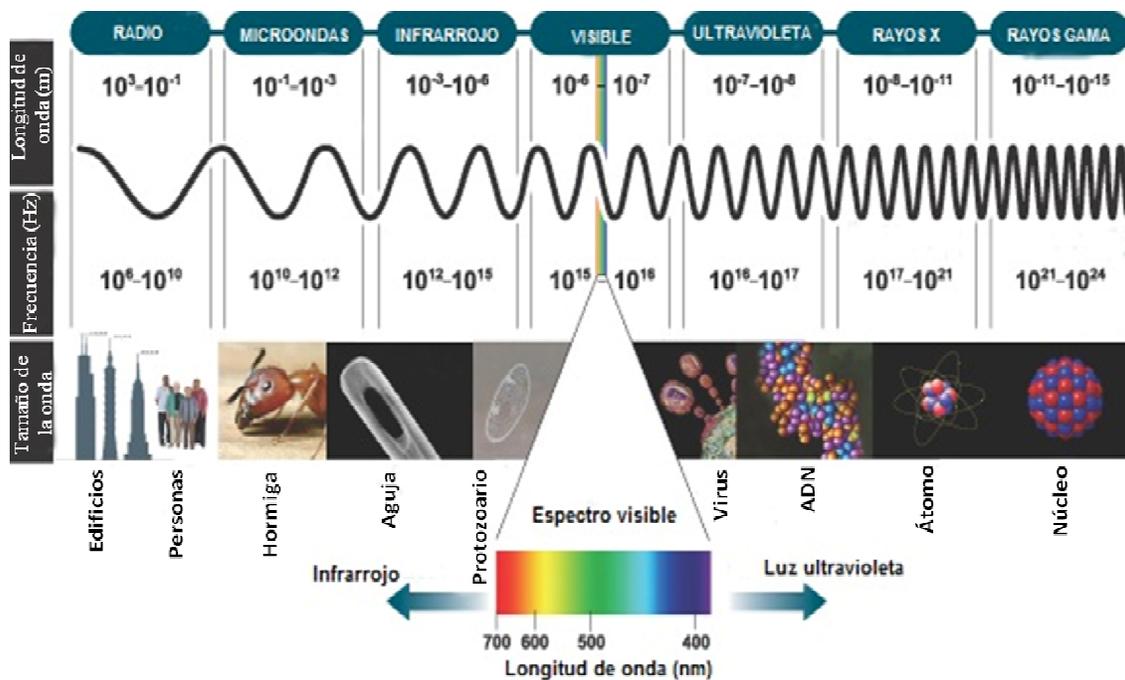
Que nos da el caudal  $Q$  (volumen de fluido por unidad de tiempo) que atraviesa un capilar de radio  $R$  y longitud  $l$  entre cuyos extremos se ha aplicado una diferencia de presiones  $\Delta p$  y  $\eta$  es la viscosidad del fluido. Esta ley permite conocer la velocidad de flujo de un líquido a través de un tubo, en función de la diferencia de presiones bajo las que se establece el desplazamiento (Nuñez *et al.*, 2001).

## 2.8 Radiaciones electromagnéticas

Una onda en general es una sucesión de máximos y mínimos (como las olas en el agua) que va avanzando por el espacio. A la distancia entre dos máximos se le llama longitud de onda. En el caso de una onda electromagnética avanza en dos campos oscilantes, uno eléctrico y otro magnético. La radiación electromagnética es una forma de energía que se propaga en el vacío en ausencia de cualquier material en movimiento. El espectro electromagnético es un conjunto de ondas que van desde las ondas con mayor longitud como "Las ondas de radio" hasta los que tienen menor longitud como "Los rayos Gamma" (Figura 11).

Es importante anotar que las ondas con mayor longitud de onda tienen menor frecuencia y viceversa. Las características propias de cada tipo de onda no solo es su longitud de onda, sino también su frecuencia y energía (Sharma *et al.*, 2003).

El calentamiento electromagnético, así como las microondas e infrarrojo, se le pueden encontrar aplicación en muchos procesos de alimentos en la industria o en el hogar, incluyendo recalentamiento, precocido, cocido, secado, pasteurización y esterilización. Los procesos de calentamiento electromagnético están gobernados por las propiedades del material llamadas propiedades dieléctricas. El conocimiento de estas propiedades se hace cada vez más crítico para obtener productos constantes y fiables, así como el proceso y desarrollo del equipo.



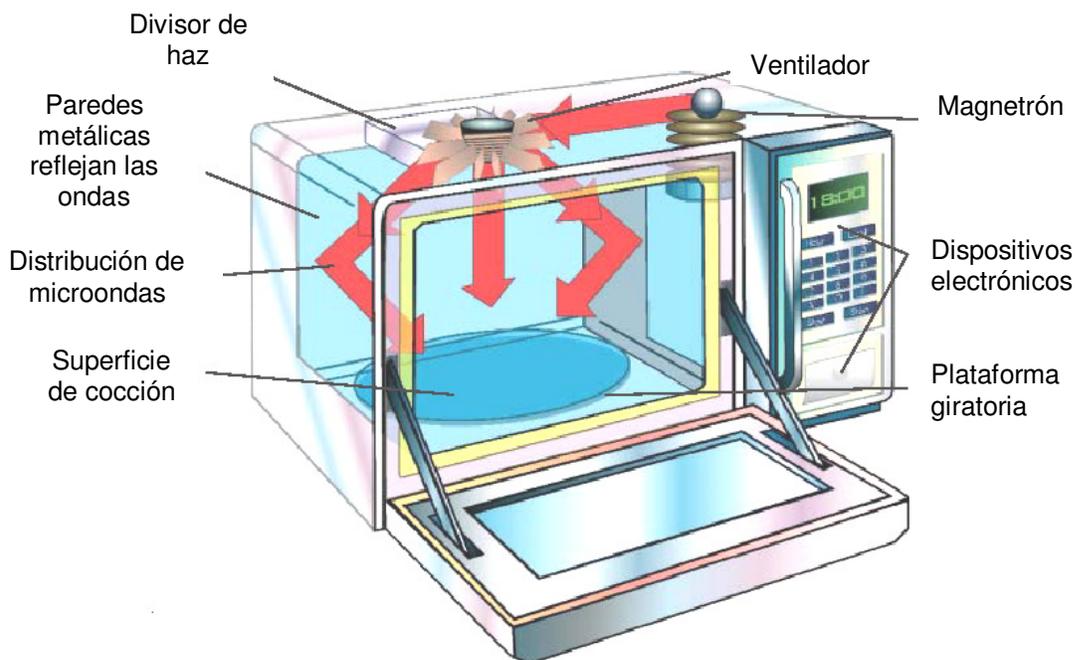
**Figura 11.** Esquema de distribución de las ondas electromagnéticas (<http://www.andor.com/learning/light/>).

Las propiedades dieléctricas obviamente dependen de la composición, humedad, contenido de sal, carbohidratos, proteínas y grasa, ya que estos son los componentes mayoritarios. La constante dieléctrica y el factor de pérdida son afectados por la presencia de agua ligada o libre, cambios de superficie, electrolitos y puentes de hidrógeno en el producto. Los cambios físicos que suceden durante el procesamiento como la pérdida de humedad y la desnaturalización de proteínas, también afectan las propiedades dieléctricas. Por lo tanto, la investigación del comportamiento dieléctrico de los componentes principales de alimentos y efectos de tratamiento sobre propiedades dieléctricas es necesaria para diseñar productos de alimentación, procesos, y equipo (Rao *et al.*, 2005).

### 2.8.1 Microondas

Con el término microondas se identifica a las ondas electromagnéticas en el espectro de frecuencias comprendido entre 300 MHz y 300 GHz. El periodo de

una señal de microondas está en el rango de 3 ns a 3 ps, y la correspondiente longitud de onda en el rango de 1 m a 1 mm. Algunos autores proponen que el espectro electromagnético que comprenden es de 1 GHz a 30 GHz, es decir, a longitudes de onda entre 30 cm a 1 cm. Las microondas se generan con tubos de electrones especiales como el klistrón o el magnetrón, que incorporan resonadores para controlar la frecuencia, o con osciladores o dispositivos de estado sólido especiales. Las microondas tienen muchas aplicaciones: radio y televisión, radares, meteorología, comunicaciones vía satélite, medición de distancias, investigación de las propiedades de la materia o cocinado de alimentos. Tienen la propiedad de excitar la molécula bipolares como el agua, por consiguiente se utilizan en los hornos de microondas para calentar alimentos que contengan este líquido (Did, 2004). En el horno de microondas, el magnetrón produce microondas de alta intensidad y las envía a la cámara del horno (Figura 12).



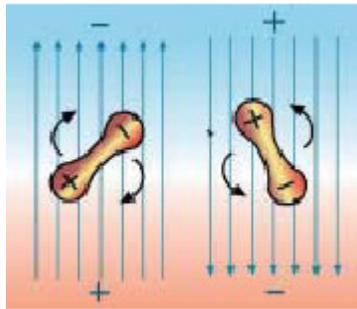
**Figura 12.** Esquema de las partes de un horno de microondas convencional (<http://globalmicrowave.org/microwaves.php>).

Los materiales poseen moléculas polares que responden a un campo eléctrico como la radiación con microondas porque estas moléculas serán

polarizadas en presencia de dicho campo eléctrico. Primero se debe distinguir entre moléculas que son dipolos eléctricos permanentes como el agua y aquellos que son dipolos temporales como los hidrocarburos. Cuando los dipolos permanentes están en presencia de un campo eléctrico se orientan hacia sí mismos se alinean en dirección del campo eléctrico. Esto es conocido como orientación polarizada. Los dipolos temporales no son normalmente moléculas polares, pero pueden ser deformados bajo la influencia de un campo eléctrico. Esto causa que adquieran dipolos y sean temporalmente polarizados, así también son orientados hacia sí mismo para alinearse en dirección del campo eléctrico. Sin embargo, estos pierden inmediatamente su polarización cuando el campo eléctrico desaparece (Figura y Teixeira, 2007).

Los alimentos absorben energía de las microondas esto se debe a las interacciones inducidas entre campos dieléctricos y electromagnéticos, la penetración de las ondas dependerá del material y la conductividad térmica (Bhattacharya y Basak, 2006). El calentamiento por microondas es generado por la fricción molecular de dipolos eléctricos y cambios moleculares bajo un campo de oscilación de frecuencia específica y por la transferencia de calor por conducción, convección y evaporación dentro del alimento (Tong *et al.*, 1992; Bernussi, 1998). El calentamiento dependerá de la composición, tamaño y geometría del alimento (Van Remmen *et al.*, 1996). Las moléculas de agua presentan un polo positivo y otro negativo. Las microondas, que cambian continuamente de signo la mueven muy rápido y provocan una energía que calienta el alimento (Figura 13).

Los materiales de moléculas no polares no absorben tanta energía y por eso no se calientan. Tampoco lo hace el hielo, porque las moléculas de agua tienen posiciones fijas y no chocan tanto entre ellas.



**Figura 13.** Molécula bipolar movida por el cambio de signo de las microondas (<http://globalmicrowave.org/microwaves.php>).

### **2.8.1.1 Aplicación de microondas en alimentos**

#### **A) Calentamiento y secado**

El secado con microondas resulta en una alta eficiencia térmica, cortos tiempos de secado y productos de calidad comparado con el secado convencional por aire caliente. El secado con microondas ayuda a remover la humedad de los alimentos sin tener problemas de endurecimiento (Prabhanjan *et al.*, 1995). El secado con microondas requiere un espacio pequeño comparado con los secadores convencionales. Por ejemplo, la cocción del pan se puede lograr con un 50% de tiempo cuando la energía de microondas es utilizada (Mullin, 1995). En el secado con este tipo de energía el costo de operaciones es bajo porque la energía no se pierde en el calentamiento de las paredes del equipo o en el ambiente (Thuery, 1992; Mullin, 1995).

El calentamiento generado por la energía de microondas ocurre principalmente en el producto no en las paredes del horno. Funebo y Ohlsson (1998) estudiaron la deshidratación en manzana y evaluaron los valores L, a y b siendo estos similares a los obtenidos con aire caliente y el secado con microondas. Warchalewski *et al.* (1998) evaluaron el color del trigo después de haber sido tratado con microondas y observaron que el color no cambiaba aún a altos tiempos de exposición. Las microondas como método de secado se han aplicado en varios productos como son zanahorias, papas, zarcamoras, ajo,

espinacas, cebollas, cerezas, eneldo, plátano, champiñones, entre otros (David, 1987; Prabhanjan *et al.*, 1994; Krokida *et al.* 1997; Oduro y Clarke, 1999; Sharma y Prasad, 2001; Cui *et al.*, 2003; Soysal, 2004; Giri y Prasad, 2006).

Además que con el uso de microondas no se ven tan afectados los parámetros de textura y organolépticos (Funebo *et al.*, 2002). Por otra parte el secado con microondas tiene menos efecto sobre las propiedades nutricionales y biológicas de los alimentos que el secado convencional. Walde *et al.* (2002) estudiaron el uso de microondas en trigo y determinó que el contenido total de proteína en las muestras de trigo no cambiaba comparado con el control (9.9%), pero la estructura y características funcionales de la proteína de trigo el gluten si cambiaron. La funcionalidad del gluten fue alterada, al observarse una disminución de la elasticidad de la masa.

Recientemente Hernández (2011) al calentar diferentes variedades de trigo con microondas a 5, 10 y 15 seg observó que se mejoraba la calidad panadera, obteniendo un incremento en el volumen del pan y un incremento en la tenacidad de la masa. Sin embargo en trigo la capacidad de germinación fue afectada por la energía de estas ondas, se observó que la capacidad de germinación decreció, pero en el contenido de proteínas no hubo cambio durante el secado con microondas (Campaña *et al.*, 1993). Velu *et al.* (2006) evaluaron las características del calentamiento con microondas en maíz, las microondas no alteraron el contenido total de proteína, sin embargo se notaron algunos cambios estructurales en las proteínas y el almidón. Efectos similares también fueron observados por Rodríguez (2010) al emplear tiempo de 5, 10, 15, 25, 35 y 45 seg, en un rango de 0-15 seg se observó un incremento en el rendimiento de la masa y la tortilla de maíz. También se han reportado efectos sobre la fibra dietética en chícharo, el contenido total de fibra decrece solo después de un tratamiento de 4 min en microondas, primero existe una pérdida de fibra soluble, se considera después del primer tratamiento con microondas una disminución en la viscosidad y en el peso molecular, pero repetidos tratamientos reducen más el peso molecular pero no la viscosidad (Svanberg *et al.*, 1997). Existe en los alimentos degradación

de vitaminas, oxidación de lípidos y reacciones de pardeamiento, pero estas son menores que con el calentamiento convencional (Lane *et al.*, 1985; Ramesh *et al.*, 2002; Kharaisheh *et al.*, 2004).

En lo que respecta a la aplicación del calentamiento de microondas en cebada Sadeghi y Shawrang (2008) evaluaron el efecto de la irradiación sobre las características de degradación del almidón y proteína en el rumen, usando una energía de 800 W con tiempos de 3, 5 y 7 min. En dicho estudio se observó que la energía de microondas incrementaba la degradación tanto de almidón como de proteína, es decir facilita la degradación en el rumen de los animales.

### **B) Inactivación de enzimas y microorganismos**

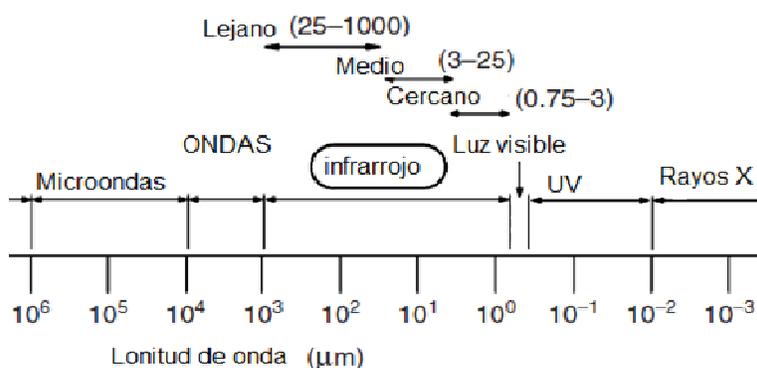
La energía de microondas induce efectos térmicos sobre microorganismo y en enzimas de forma similar que el calentamiento convencional (Tajchakavit *et al.*, 1998; Matsui *et al.*, 2006). Devecce *et al.* (1999) compararon el uso de microondas con el calentamiento convencional para la inactivación de enzimas en champiñones y se obtuvo una inactivación de la enzima polifenoloxidasas que es la enzima principal de la oxidación del champiñón. Yuanyuan *et al.* (2007) emplearon a las microondas para lograr la inactivación de enzimas en té verde y mejorar la preservación de la calidad del té.

Banik *et al.* (2003) observaron que disminuía *Escherichia coli* a temperaturas de 45, 47 y 50 °C por medio de la irradiación con microondas, esta disminución fue más alta que con la esterilización convencional a la misma temperatura. Culkin y Fung (1975) demostraron que *E. coli* y *Salmonella typhimurium* no sobrevivía en sopas cocinadas a 915 MHz. También se logra la esterilización o disminución con microondas de *Staphylococcus aureus* (Yeo *et al.*, 1999), *Bacillus* spp. (Celandroni *et al.*, 2004), *Campylobacter jejuni* (Uradzinski *et al.*, 1997), *Saccharomyces cerevisiae* y *Lactobacillus plantarum*, así como *Alicyclobacillus acidoterrestris* (Tajchakavit *et al.*, 1998, Giuliani *et al.*, 2010).

Por otra parte el calentamiento con microondas también es usado como un control no químico de insectos y hongos. Como las microondas tienen una alta capacidad de penetración en los granos de cereales, el secado es más uniforme y eficiente (Hurlock *et al.*, 1979). Las microondas tienen la capacidad de inactivar al *Fusarium graminearum* en el trigo (Reddy *et al.*, 1998). Watters (1976) usó las microondas para disminuir al *Tribolium confusum* J. en el grano de trigo y harina, se obtuvo una mortalidad del 70% a 55 °C y del 100% a 65 °C.

### 2.8.2 Infrarrojo

El nombre de infrarrojo, que significa por debajo del rojo, proviene de la observación hecha por primera vez al dividir la luz solar en diferentes colores por medio de un prisma que separaba la luz en su espectro de manera que a ambos extremos aparecen visibles las componentes del rojo al violeta. Aunque estas experiencias habían sido realizadas anteriormente por Isaac Newton. En el año 1800 William Herschel observó que se recibía radiación debajo del rojo al situar medidores de calor en las diferentes zonas no visiblemente irradiadas por el espectro. Las ondas de infrarrojo son parte del espectro electromagnético. La longitud de onda del infrarrojo va de 0.75 a 1000  $\mu\text{m}$ . La radiación térmica es generalmente considerada en un rango 0.1 a 100. La gama de la región infrarroja (Figura 14) se divide en infrarrojo cercano (0.75 a 3  $\mu\text{m}$ ), infrarrojo medio (3 a 25  $\mu\text{m}$ ) e infrarrojo lejano (25 a 1000  $\mu\text{m}$ ) (Fu y Lien, 1998).



**Figura 14.** Espectro electromagnético donde se muestran la región del infrarrojo y sus subregiones de infrarrojo cercano, medio y lejano (Did, 2004).

El infrarrojo se utiliza en los equipos de visión nocturna cuando la cantidad de luz visible es insuficiente para ver los objetos. Un uso muy común es el que hacen los comandos a distancia (telecomandos) que prefieren los infrarrojos a las ondas de radio. También se usan para comunicar a corta distancia los ordenadores con sus periféricos o en mandos a distancia de equipos electrónicos. La luz utilizada en las fibras ópticas es generalmente de infrarrojos y por último también el infrarrojo es empleado en alimentos. En alimentos el infrarrojo es ampliamente usado para (Did, 2004):

1. Calentamiento de alimentos.
2. Determinación espectroscópica de la composición química de alimentos (aplicación analítica).
3. Medición de la temperatura de los cuerpos sin contacto.

Aunque estos tres tipos de usos implican las mismas propiedades, el uso del infrarrojo para el calentamiento de alimentos implica operaciones como: secado, cocción, asado, blanqueado y pasteurización superficial. La irradiación infrarroja en superficies de alimentos inicialmente comprende pequeñas penetraciones relativamente, sin embargo la penetración va a depender de la composición del alimento y la longitud de onda.

Las interacciones de los alimentos en el infrarrojo cercano y medio son primariamente de energía vibracional a nivel molecular, mientras que en el infrarrojo lejano, su interacción implica niveles de energía rotacional de las moléculas. Durante la absorción, la energía es transferida de la onda electromagnética a una molécula o átomo, provocando un estado excitado. Si una molécula o el átomo son expuestos a la radiación electromagnética de longitudes de onda diferentes, esto sólo absorberá fotones en aquellas longitudes de onda que corresponden a diferencias exactas entre dos niveles de energía diferentes dentro del material (Rao *et al.*, 2005). Los alimentos en general absorben una gran fracción de la irradiación de energía del infrarrojo lejano (FIR). La mayoría de los componentes de los alimentos absorben rangos de longitudes de onda cubiertas por el infrarrojo lejano (Fu y Lien, 1998).

Los alimentos como ya se comentó anteriormente están compuestos por varias moléculas como polímeros, sales y agua. Las bandas de absorción relevantes para calentamiento de alimentos se observan en el cuadro 3:

**Cuadro 3.** Bandas de absorción de infrarrojo relevantes en el calentamiento de alimentos (Rosenthal, 1992).

Grupo químico	Longitud de onda de absorción ( $\mu\text{m}$ )	Componente relevante del alimento
Hidróxilo (O-H)	2.7-3.3	Agua, carbohidratos
Carbono alifático-Puente de hidrógeno	3.25-3.7	Grasas, carbohidratos, proteínas
Carbonilo (C=O) éster	5.71-5.76	Grasas
Carbonilo (C=O) amida	5.92	Proteínas
Nitrógeno-Grupo hidrógeno (-NH-)	2.83-3.33	Proteínas
Carbono-Carbono doble enlace (C=C)	4.44-4.76	Grasas insaturadas

### 2.8.2.1 Aplicación de IR en alimentos

#### A) Calentamiento y secado

La aplicación de FIR en la industria de alimentos representa un nuevo proceso para la producción de alimentos secos de alta calidad a bajo costo (Sakai y Hanzawa 1994). El uso de la radiación de IR para la tecnología de deshidratado en alimentos tiene numerosas ventajas incluyendo la reducción del tiempo de secado, una fuente alternativa de energía, incremento en la eficiencia de la energía, una temperatura uniforme en el producto, mejor calidad del producto terminado, alto grado de control en los parámetros del proceso y crea un ambiente limpio de trabajo (Dostie *et al.*, 1989; Navari *et al.*, 1992; Sakai y Hanzawa 1994; Mongpreneet *et al.*, 2002).

Por lo tanto el secado con FIR ha sido aplicado en los recientes años para el secado de productos de origen vegetal (Umesh, *et al.*, 2004; Gabel *et al.*, 2006; Wang y Kuichuan, 2006) como en las papas (Masamura *et al.*, 1988; Afzal y Abe, 1998), en camote (Sawai *et al.*, 2004), en cebollas (Mongpreneet *et al.*, 2002; Sharma *et al.*, 2005), en kiwi (Fenton y Kennedy 1998), y en manzanas (Nowak y Levicki, 2004; Togrul, 2005). El secado de algas, vegetales, pescado y pasta es también hecho en túneles de secado por IR (Hagen y Drawert 1986). También el IR se ha empleado para la cocción de tortillas de harina de trigo usando un horno continuo de infrarrojo sobre el rango del infrarrojo medio y lejano durante 17-19 seg., se determinó que este método es rápido y reduce la deshidratación de la tortilla obteniendo las mismas características fisicoquímicas que con el método tradicional de cocción, siendo la ventaja a la reducción de costos empleando el infrarrojo (Martínez *et al.*, 1999).

En semillas de lenteja se observó que usando infrarrojo se reducen los tiempos de cocción en comparación con la cocción tradicional (Cenkowski y Sosulski, 1997). La radiación del FIR puede ser considerada como una absorción superficial. El infrarrojo en alimentos también produce solubilidad de proteínas como en el caso de la semilla de soya a una temperatura de 120-180°C con una potencia de 650 W, para este caso no es afectada la lisina con respecto a otros tratamientos como la extrusión (Wiriyaumpaiwong, *et al.*, 2004). En semillas de leguminosas como el frijol se observaron al someterlas a infrarrojo a 140°C cambios en la composición química, propiedades físicas, mecánicas y funcionales, tales como incremento en el volumen, bajo punto de ruptura, fragilidad mayor, mayor absorción de agua, los inhibidores de tripsina fueron reducidos, sin embargo no se observó daño en el almidón ni en proteínas, además las características funcionales de las harinas obtenidas de las leguminosas irradiadas fueron mejores que aquellas sin tratar (Fasina, *et al.*, 2001).

En lo que respecta al grano de cebada con cascarilla y perlado ha sido irradiado con infrarrojo hasta alcanzar una temperatura de 105 a 150°C, dando como resultado efectos sobre las propiedades funcionales, estructurales y físicas,

siendo el grano menos denso, con mayor expansión, se incrementa la absorción de agua y hay menos solubilidad de proteínas debido a la desnaturalización de estas (Fasina, *et al.*, 1999).

## **B) Inactivación de enzimas y microorganismos**

Tratamientos con infrarrojo da una exitosa inactivación de la enzima peroxidasa en cebada, también la inactivación de lipasa y  $\alpha$ -amilasa en solución empleando infrarrojo lejano a temperaturas mayores de 50°C (Sawai *et al.* 2003; Ames *et al.*, 2006), así como inactivación de la ureasa en semillas de soya. También tratamientos con IR dan una inactivación de la lipooxigenasa, una enzima responsable del deterioro de la soya, fue inactivada en un 95.5% con 60 seg de tratamiento (Kouzeh *et al.*, 1982). El FIT ha sido empleado para la inactivación de enzimas responsables del desarrollo de sabores desagradables en chicharos antes del proceso de congelación (Van Zuilichem *et al.*, 1986), así como en otras enzimas y bacterias en solución (Sawai *et al.*, 2003). Galindo *et al.* (2005) investigaron la aplicación del calentamiento de IR en rebanadas de zanahoria antes del congelamiento, las rebanadas de zanahoria calentadas por irradiación de FIR contenían menos daño celular en la superficie y exhibían la textura característica del tejido crudo.

Por otra parte el infrarrojo ha sido empleado como un proceso de pasteurización en hot dogs, fue eficiente en la eliminación de *Listeria monocytogenes* superficial, teniendo incrementos de temperatura de 70 a 85 °C logrando la inactivación de dicha bacteria (Huang y Sites, 2008). Esporas de *B. subtilis* fueron inactivadas con irradiación de infrarrojo a temperaturas de 120, 140, 160 y 180°C (Molin y Ostlund, 1975). Tiempos cortos de tratamiento fueron suficiente para la inactivación de patógenos a altas temperaturas como *E. coli* cuya población se reduce después de 2 min de exposición al IR (Sawai *et al.*, 2003).

En la superficie de cereales contaminados con esporas formadas de *Bacillus*, *Aspergillus* y *Penicillium* como el trigo fue tratado con calentamiento de

infrarrojo a 2.0 kW por 30 seg, seguido de un enfriado de 4 h y otra vez calentamiento de 30 seg con infrarrojo para obtener una reducción de 1.56 log<sub>10</sub> CFU/g. La irradiación ayuda a la inactivación de esporas en células vegetales y una segunda irradiación efectivamente inactiva esporas formadas. Por otra parte, tratamientos intermitentes pueden minimizar los cambios de calidad en comparación a tratamientos prolongados continuos de 50 seg (Hamanaka *et al.*, 2000). Las levaduras naturales de la miel fueron inactivadas con tratamiento de 8 min con infrarrojo (Hebbar *et al.*, 2003). La temperatura en la miel fue superior a los 100°C después del tratamiento, dando lugar a una reducción microbiana de 3.85 log<sub>10</sub> CFU/mL.

### III. OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo general:

Evaluar los efectos de la irradiación con microondas e infrarrojo (IR) sobre las propiedades mecánicas, la calidad maltera y cambios en algunos componentes bioquímicos del grano de diferentes variedades de cebada.

#### 3.2 Objetivos específicos:

1. Evaluar los cambios del gránulo de almidón de los granos de cebada irradiados con microondas e IR empleando Microscopía Electrónica de Barrido de bajo vacío (SEM).
2. Determinar las diferencias en el perfil de viscosidad en los granos irradiados antes del malteo empleando el analizador de viscosidad (Rapid Visco Analyser).
3. Evaluar los cambios en la conformación de las proteínas de la forma  $\alpha$  o  $\beta$  hélice por medio de espectroscopia FTIR en el grano de cebada irradiado.
4. Evaluar la calidad de la malta del grano de cebada, tratado con microondas e IR, utilizando los parámetros de extracto de malta, contenido de nitrógeno y viscosidad.
5. Determinar el efecto de la irradiación en los sistemas enzimáticos del grano irradiado y la malta obtenida.
6. Evaluar los cambios en  $\beta$ -glucanos y fibra dietética total del grano de cebada irradiado.

7. Determinar los cambios en la solubilidad y peso molecular de las fracciones de proteínas del grano de cebada irradiado con microondas e IR por medio de electroforesis SDS-PAGE y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).
8. Evaluar los cambios en las propiedades mecánicas y viscoelásticas de los granos irradiados a los diferentes tiempos.

## IV. METODOLOGÍA

Este trabajo se realizó en las instalaciones del Centro de Investigaciones y Estudios Avanzados (CINVESTAV) del IPN, unidad Querétaro.

### 4.1 Materia prima

Para la realización del presente trabajo de investigación se utilizaron como muestras de estudio cuatro cultivares de cebada (*Hordeum vulgare L.*) las cuales fueron producidas en el estado de Hidalgo, dos de ellas de tipo forrajero: Adabella y Pastor Ortiz cultivadas en Apan, ciclo 2006 y dos cebadas malteras: Esperanza y Esmeralda del ciclo 2005, cultivadas en Palma Gorda y Zapotlán respectivamente. También se emplearon cultivos de 2008 en la segunda etapa de los análisis.

### 4.2 Métodos

#### 4.2.1 Limpieza y selección del grano

Se tomaron 5 Kg. de cada muestra de cebada, los cuales se pasaron por cuatro cribas, dos de ellas de orificios circulares de 12/64" y 6/64", para separar las impurezas del grano de cebada y de orificios oblongos 6/64" x 3/4" y 5 1/2 / 64" x 3/4" marca Seedburo Equipment para seleccionar al grano de acuerdo al tamaño conforme a la norma NMX-FF-043-SCFI-2003.

#### 4.2.2 Determinación de humedad del grano de cebada

Se empleó un medidor digital de humedad Seedburo Equipment 1200 (Método 44-11, AACC 1995), la prueba se basó en las propiedades dieléctricas del grano de cebada.

#### 4.2.3 Pruebas preliminares de tiempo de radiación

Se realizaron experimentos para determinar las condiciones a las cuales se debe someter en tiempo las muestras a microondas e infrarrojo. De cada muestra se tomaron 100 granos al azar, éstos fueron sometidos a varios tiempos de exposición de microondas e infrarrojo, comenzando con rangos grandes y de

acuerdo a la prueba de energía de germinación (5.2.3.1) se disminuyeron los tiempos. Se observó en que rango de tiempo de 0, 5, 10, 15, 25 seg para microondas y de 28, 37, 54, 115, 136 seg para IR el grano no sufrió daño y siguió siendo viable, entonces se puso atención en dicho rango y se disminuyeron los intervalos de tiempo hasta determinar aquellos en los cuales se obtuvo un mayor extracto de malta. Para el caso de infrarrojo también se estableció la velocidad de la banda transportadora.

#### **4.2.3.1 Energía de germinación**

Se tomaron 100 granos tratados con microondas o infrarrojo y se colocaron en frascos de precipitado con 50 mL de agua a 4°C, siguiendo la metodología de Figueroa (1985). Posteriormente se realizó el secado y el extracto de malta.

#### **4.2.3.2 Calibración del horno de microondas**

Se empleó un horno de microondas convencional marca Sharp modelo R-501CW, con una potencia de 1.45 KW y frecuencia de 2450 MHz. El horno de microondas fue calibrado empleando la técnica reportada por Kharaisheh *et al.* (2004).

#### **4.2.4 Tratamiento con radiaciones electromagnéticas**

##### **4.2.4.1 Irradiación con microondas**

De cada muestra se tomaron 100 g base seca (BS) de acuerdo a la fórmula de Figueroa (1985) y fueron introducidos en bolsas de polietileno de 2 Kg distribuidos homogéneamente. Los tiempos de exposición a la irradiación electromagnética fueron a 4 y 8 seg, teniendo un control a tiempo 0 seg (López *et al.*, 2008).

##### **4.2.4.2 Irradiación con infrarrojo**

Los 100 g (BS) de cada variedad fueron sometidos a un horno de infrarrojo continuo desarrollado en el CINVESTAV-Querétaro (Figura 15), se trabajó con una

potencia alrededor de 900 W, a una longitud de onda de 2.5-4.0  $\mu\text{m}$ . La muestra fue colocada en la banda transportadora en charolas del mismo material que ésta, de la misma forma que en el microondas se distribuyó en una capa homogénea, la velocidad de la banda de acuerdo a pruebas preliminares fue a 40 y 60 Hz, lo que correspondió a un tiempo de 54 y 37 seg, respectivamente, teniendo un control a 0 seg.



**Figura 15.** Equipo de infrarrojo empleado para irradiar las muestras de cebada.

## **4.2.5 Malteo**

### **4.2.5.1 Remojo**

Los 100g (BS) de muestra expuestos a los diferentes tiempos de radiación se colocaron en un frasco ámbar de 500mL, y se adicionaron 250 mL de agua a 4 °C. Los frascos fueron colocados en una germinadora de doble cámara Seedburo Equipment EU650 a 16°C, aquí se mantuvieron por 48 h (Molina-Cano, 2002; Figueroa *et al.*, 1989; Figueroa, 1985), a las 24 h se cambió el agua y se dejaron en oxigenación durante 2 h, hasta que se alcanzó una humedad de aprox. 45 %,

se eliminó el exceso de agua y se determinó la humedad del grano por medio de una termobalanza IR35 DENVER Instrument (López-Perea *et al.*, 2008).

#### **4.2.5.2 Germinación**

Las muestras se colocaron en una charola de plástico en una cámara de germinación, en condiciones de oscuridad durante 4 días, hasta que la plúmula alcanzó un tamaño de aprox. 3/4 del grano (Figuroa, 1985; Figuroa *et al.*, 1989; Vis y Lorenz, 1998; Ruíz, 2006) Se aplicaron dos o tres volteos manualmente para evitar entrecruzamiento de raicillas (Dewar *et al.*, 1997).

#### **4.2.5.3 Secado**

Después del tiempo predeterminado para la germinación, las muestras fueron distribuidas en charolas de aluminio y colocadas en una estufa Felisa inicialmente a 35 °C durante 19 h, después se incrementó a 45°C por 24 h, al término de este tiempo se incrementó a 65°C por 25 h y por último se disminuyó la temperatura a 30 °C por 14 h (López-Perea *et al.*, 2008). Al término del secado se determinó la humedad empleando el método 935.29 de la AOAC (2000).

#### **4.2.6 Molienda**

Se pesaron 25g de la malta, la molienda se realizó en un molino Mini Pulvex 100 fue por 30 seg. Para molienda fina se uso una malla de 0.51mm (0.02") y para molienda gruesa de 1.37mm (0.0540"). Se recolectó toda la molienda en bolsas de plástico. Entre cada muestra el molino fue limpiado con una aspiradora para evitar residuos de muestras anteriores (método 935.30 de la AOAC, 2000).

#### **4.2.7 Análisis de calidad maltera**

##### **4.2.7.1 Extracto de malta**

Se determinó el potencial de la malta produciendo un mosto con una maceración estandarizada (Figuroa, 1985;; Método 935.30 AOAC, 2000; Método 4.5.1 EBC, 2003). Se emplearon las siguientes fórmulas:

$$GS = \frac{PM - PV}{PA - PV}$$

Donde:

GS = Gravedad específica a 20°C

PM = Picnómetro con muestra

PV = Picnómetro vacía

PA = Picnómetro con agua

Para calcular el porcentaje de extracto fue la siguiente:

$$^{\circ}p = (GS \times 244.26872) - 244.03851$$

$$\% \text{Extracto(BS)} = \frac{^{\circ}p(H + 800) \times 100}{(100 - ^{\circ}p)(100 - H)}$$

Donde:

$^{\circ}p$  = Grado plato

BS = Base seca

H = porcentaje de humedad de la malta

#### 4.2.7.2 Diferencia de extractos

Realizada la determinación del extracto de malta tanto para molienda fina como para molienda gruesa se calculó la diferencia de extractos únicamente por sustracción de los valores resultantes para cada uno de ellos. Se consideró la modificación de la malta según el cuadro 4:

**Cuadro 4:** Modificación de la malta de acuerdo a la diferencia de extractos (Figuerola, 1985).

Diferencia de extractos	Modificación de la malta
1.5	Excelente
2.5	Buena
3.5	Regular
4.5 o más	Pobre

#### **4.2.7.3 Poder diastásico de malta**

Se determinó el poder diastásico de la malta bajo condiciones estandarizadas. Las enzimas de la malta fueron extraídas con agua a 40 °C, la solución de almidón fue hidrolizada por las enzimas extraídas de la malta. La cantidad de azúcares reductores formados por la acción amilolítica fue estimada por yodometría. El resultado fue calculado en gramos de maltosa el cual es producido bajo condiciones específicas por 100 g de malta Método 4.12 EBC (2003).

#### **4.2.7.4 Actividad de $\alpha$ -Amilasa**

Se determinó la actividad de la  $\alpha$ -amilasa como tiempo de dextrinización de una solución de almidón en presencia de un exceso de  $\beta$ -amilasa. La cantidad de  $\alpha$ -amilasa fue estimada visualmente usando un color correspondiente a la concentración de almidón remanente en solución, que especifica el punto final del proceso de dextrinización (Método 4.13 EBC, 2003).

#### **4.2.7.5 Viscosidad del mosto**

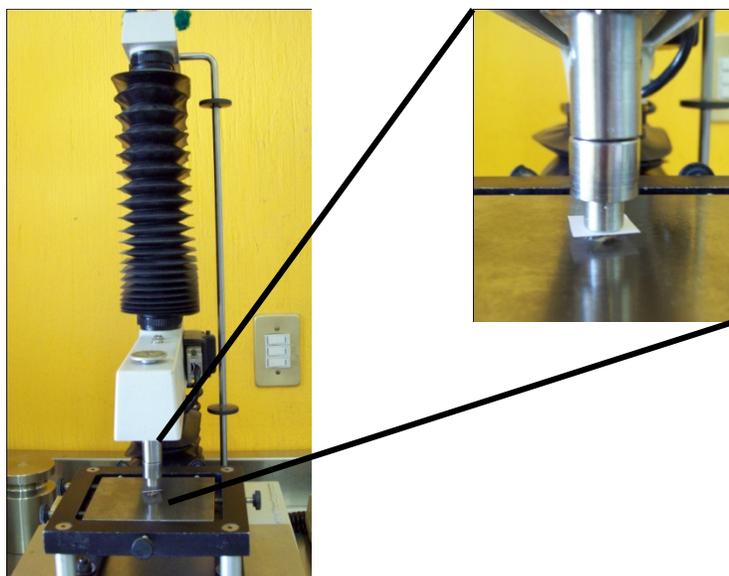
La viscosidad del mosto se determinó empleando un viscosímetro de Ostwald bajo el método 4.8 de la EBC (2003).

#### **4.2.7.6 Nitrógeno total en grano, malta y soluble en mosto**

El contenido de nitrógeno fue determinado por el método de Kjeldahl empleando un equipo de micro-Kjeldahl. Las muestras de grano de cebada (Método 46.10 AACC, 1995), malta y mosto (Método 4.3.1 y 4.9.1 EBC, 2003) fueron digeridos con ácido sulfúrico caliente en presencia de la catálisis que dio el sulfato de amonio. La digestión alcalina se realizó con NaOH y el amonio liberado fue destilado dentro de un exceso de ácido bórico. El amonio fue titulado con una solución de ácido clorhídrico.

#### **4.2.8 Propiedades mecánicas del grano de cebada**

El ancho, alto y largo del grano de cebada fue medido usando un vernier digital (CD-6 CS, Mitutoyo, Japan). Un TA-XT2 texture analyzer (Texture Technologies Corporation, Stable Micro Systems, Surrey, England) fue usado para medir la fuerza de compresión ejercida sobre el grano y la deformación de la cebada entre dos placas paralelas usando una sonda de aluminio de 10 mm de diámetro x 8.3 de alto con una base de 15x15 mm y el plato (Figura 17). Posteriormente para determinar el área de contacto se siguió la metodología de Ponce-García (2008). El área se calculó con el software IMAGE J versión 1.33<sup>o</sup>.



**Figura 16.** Analizador de Textura Universal TA-XT2 y la sonda de aluminio empleada.

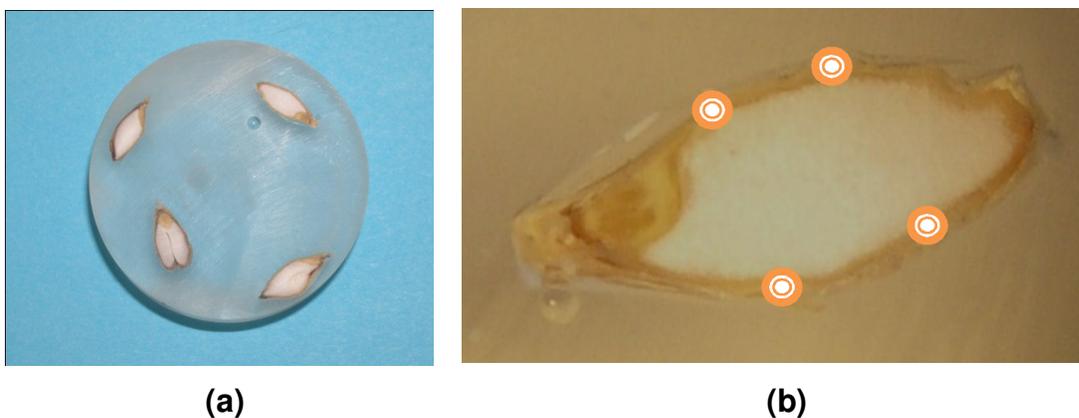
#### **4.2.9 Microscopía electrónica de barrido (SEM)**

##### **4.2.9.1 Preparación de la muestra**

Cinco granos tratados a microondas e IR de cada variedad se fracturaron con un punzón obteniéndose el grano en dos partes. Se colocó pegamento por la parte inferior donde fueron lijados y se colocaron en una placa de aluminio de 5cm x 5cm x 4cm. En ese momento los granos estuvieron listos para ser observados

por medio del Microscopio Electrónico de Barrido (SEM) Philips model XL30 (Gaytán *et al.*, 2006). Los granos fueron observados a 1500X.

Por otra parte, para determinar el grosor de las capas que conforman la cascarilla del grano de cebada se tomaron 4 granos de la variedad Esmeralda y Pastor Ortíz, estos fueron colocados en moldes de goma y fueron embebidos en un disco hecho de acrílico de dos componentes de resina de acrilato (metacrilato de metilo y 2-hidroxietil metacrilato) (AcryFix, Struers, Dinamarca). La muestra se dejó en reposo durante 12 h, se retiraron del molde de goma y se pulieron. Se realizó un corte longitudinal de las estructuras del grano por medio del montaje de la pastillas en una herramienta de pulido (RotoPol-25, Struers, Dinamarca) y posteriormente se utilizaron diversas lijas hasta obtener una superficie brillante (Figura 16). Por último las pastillas pulidas fueron limpiadas con etanol y una tela de algodón (Figuroa *et al.*, 2011). Fueron observadas al microscopio a 350X obteniendo 4 micrografías de cada grano en diferentes puntos como se muestra en la Figura. Para medir el grosor de las capas de la cascarilla del grano se empleó el software IMAGE J versión 1.33o, la medición se realizó en 5 puntos diferentes.



**Figura 17.** Granos de cebada preparado para SEM, (a) en un soporte de acrílico, (b) zonas donde se tomaron las micrografías.

#### **4.2.9.2 Condiciones de operación del SEM**

El equipo se acondicionó para que trabajara en módulo de bajo vacío, se ajustó el haz de electrones a 15 kV y aprox. a 50 $\mu$ A de corriente. El detector usado fue de tipo GSE con spot size del láser de 4.5 y a 1 Torr de presión. Para la morfología del almidón se observaron a 1500x y en el caso de las pastillas de acrílico fueron observadas a 12x y 350x. Se realizaron las lecturas en las diferentes áreas del grano ajustado a conveniencia de la luminosidad, brillo y contraste de la imagen, así como la escala de la misma.

#### **4.2.10 Grado de cristalinidad por Rayos X**

Se usó un difractómetro de rayos X (modelo Dmax2100, RIGAKU) a 30kV y 16 mA,  $\lambda = 1.78899 \text{ \AA}$ , con radiación de  $\text{CoK}\alpha$  y el ángulo de barrido fue de 5-38 $^\circ$  sobre la escala  $2\theta$  con intervalos de 0.2 (Gaytán *et al.*, 2006). La cristalinidad relativa del grano de cebada fue calculada por el promedio de las áreas de la región amorfa y cristalina del difractograma de rayos X por medio del software Jade 5.0 Material Date Inc.

#### **4.2.11 Perfil de viscosidad**

Se empleó un equipo Rapid Visco Analyser 3C (Newport Scientific PTY LTD, Sydney, Australia) para determinar la curva viscoamilográfica. El método empleado es el reportado por Jane *et al.*, (1999) con ligeras modificaciones.

#### **4.2.12 Extracción de las fracciones de proteínas**

Las fracciones de proteínas de albúminas, globulinas, prolaminas y glutelinas de la variedad Esmeralda fueron obtenidas de acuerdo a sus propiedades de solubilidad según la metodología de Osborne de 1924 modificada por Gellrich *et al.* (2003) y a la cual también se le hicieron determinadas modificaciones. A la muestra tamizada por malla No 100, seca y desengrasada se le agrego 600 mL de cada uno de los solventes que se presentan en el cuadro 5, para cada tipo de fracción de proteína obtenido se empleó determinado tiempo y temperatura de extracción. Entre cada extracción la muestra fue centrifugada a 1000rpm durante 30min para la siguiente extracción. El sobrenadante fue

concentrado hasta 100 mL por medio de un rotavapor Büchi y el precipitado obtenido de la centrifugación fue resuspendido con la solución de la siguiente extracción. El sobrenadante después de la concentración fue congelado con nitrógeno líquido y posteriormente liofilizado por 2 días.

**Cuadro 5.** Proceso de extracción de fracción de proteínas según su solubilidad.

<b>Paso</b>	<b>Solución (600 ml)</b>	<b>Tiempo de extracción (min)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Fracción de proteína</b>
<b>I</b>	H <sub>2</sub> O	40	4	Albuminas
<b>II</b>	NaCl 0.5 N	60	4	Globulinas
<b>Lavado</b>	H <sub>2</sub> O	15	4	
<b>III</b>	2-Propanol 55%	60	20	Prolaminas (Hordeína I)
<b>IV</b>	2-Propanol 55% + β-mercaptoetanol 0.6%	60	20	Prolaminas (Hordeína II)

#### **4.2.13 Determinación de prolaminas por electroforesis**

La determinación del contenido de proteína en la muestra liofilizada fue por medio del equipo LECO Protein Analysis. Los cambios en el peso molecular de las prolaminas del grano de cebada irradiado de la variedad Esmeralda fueron determinados por medio de electroforesis SDS-PAGE basándose en la metodología de Khan y Nygard (2003). La intensidad relativa de las bandas fue determinada usando el software IMAGE J versión 1.44p, considerando el área bajo la curva obtenida.

#### **4.2.14 Determinación de hordeínas por RP-HPLC**

La fracción de prolaminas (Hordeína) de la variedad Esmeralda fue analizada por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con fase reversa, se uso un equipo de HPLC Agilent 1100 series con detector de UV acoplado al Software Instrument 1. Se siguió la metodología de Wingad *et al.* (1986) con modificaciones. Se pesaron 0.05 g de hordeína liofilizada, adicionando 1 mL de 2-propanol al 55%, se mezcló con un vortex y se centrifugo a 5000rpm por 10 min.

Se tomaron 20  $\mu\text{L}$  de muestra para inyectar. Se empleó una columna Agilent Eclipse XCB-C8/ ZORBAX Rx-SIL ( $5\mu\text{m}$ ,  $4.6 \times 150\text{mm}$ ). El solvente (A) fue 15% de acetonitrilo con 0.1% de ácido trifluoroacético y el solvente (B) fue 85% de acetonitrilo con 0.1% de ácido trifluoroacético, se hizo un gradiente lineal de 10%-55% del solvente B con un tiempo de corrida de 55 min y un tiempo de lavado entre muestras de 5 min. Se empleó una temperatura de  $35^\circ\text{C}$ , la lectura se realizó a una longitud de onda de 214 nm y un flujo de 1 mL/min. Los espectros fueron normalizados.

#### **4.2.15 Determinación de $\beta$ -glucanos en mosto**

La determinación de  $\beta$ -glucanos fue realizada en los mostos obtenidos de los tratamientos empleando un Kit Mixed-Linkage-Beta-Glucan (K-BGLU) de Megazyme (Megazyme, 2006).

#### **4.2.16 Fibra soluble, insoluble y dietética total del grano de cebada**

La determinación de fibra se determinó en el grano de cebada irradiado y el control por medio del Método 32-07 of AACC (1995), usando enzimas de la marca Sigma.

#### **4.2.17 Reflectancia difusa de infrarrojo por transformada de Fourier**

Se tomaron 6 mg de harina de cebada seca y tamizada por malla 60, se mezclaron con 194 mg de KBr previamente secado en un horno durante 24 h a  $135^\circ\text{C}$ . El análisis espectroscópico se realizó en un espectrofotómetro Perkin-Elmer Spectrum GX de reflectancia difusa con accesorio Easi Diff (modelo Pike) para reflectancia difusa en el infrarrojo por transformada de Fourier (DRIFT). Los espectros se recogieron en  $4\text{ cm}^{-1}$  de resolución, con el rango de número de onda de  $400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ ; tomando la media de 25 lecturas. El espectro de KBr puro se restó el espectro de las muestras analizadas (Hernández, 2010).

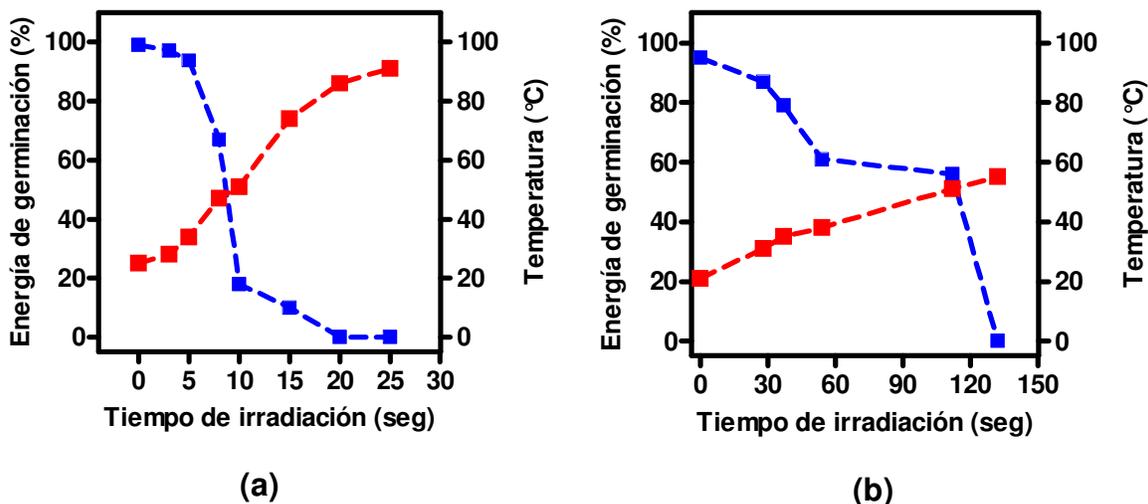
#### **4.2.18 Análisis estadísticos**

Los resultados obtenidos se analizaron utilizando la prueba de Tukey y correlaciones simples empleando el paquete estadístico SAS (1999), considerando un alto grado significativo a  $P \leq 0.05$  y  $0.05$  respectivamente.

## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1 Estudio preliminar del tiempo de radiación

Se han realizado diversos estudios sobre la aplicación de microondas en cereales como reportan Campaña *et al.* (1986, 1993) que estudiaron el uso de microondas para el secado del grano de trigo, observando las propiedades fisicoquímicas y de panificación, reportaron que la germinación fue reducida por la exposición a microondas. Dichos autores indicaron que temperaturas mayores de 58-62°C afectaron significativamente la germinación. Por lo cual este rango de temperatura fue considerado para determinar los tiempos que se usaron en las pruebas preliminares para el grano de cebada, siendo el máximo tiempo a 25 seg (Figura 18a), debido a que tiempos mayores se observó daño físico en el grano. Con respecto al tratamiento de infrarrojo (IR) se emplearon tiempos de irradiación de 0-136 seg (Figura 18b), un rango mayor de tiempo que el usado con microondas, esto a causa de la potencia menor con la que se trabajo el horno de IR de 900 W con respecto a 2450 W del horno de microondas.



**Figura 18.** Efecto del tiempo de irradiación con (a) microondas e (b) infrarrojo sobre la energía de germinación de la cebada. La línea azul indica el % de germinación y la roja el incremento de temperatura.

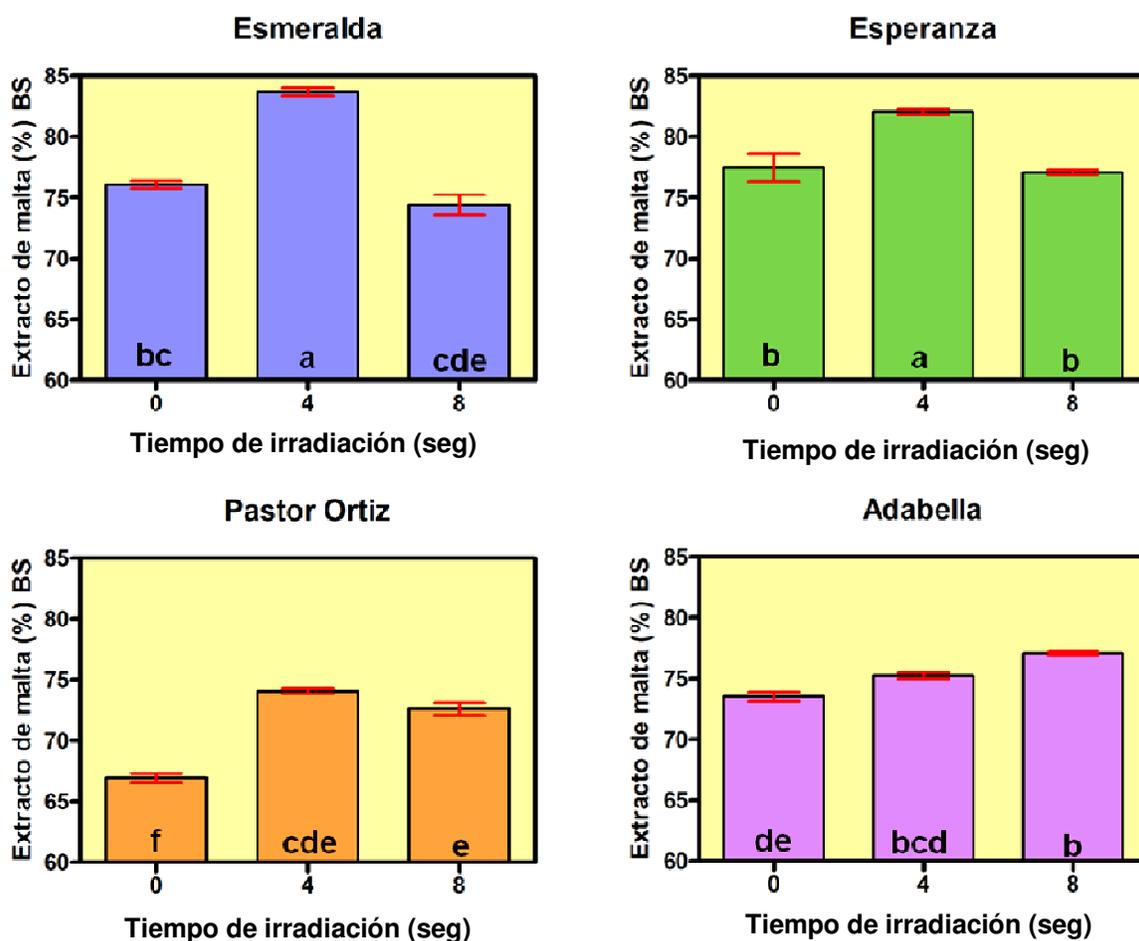
La energía de germinación fue evaluada a los tiempos de irradiación determinados para microondas e IR, esta prueba indica la velocidad de germinación. La Figura 18, muestra que a tiempos mayores de 10 seg de irradiación con microondas (a) y a tiempos mayores de 60 seg para infrarrojo (b), se afecta significativamente la germinación, produciendo una disminución de la viabilidad del grano de cebada. En el proceso de malteo se requieren porcentajes mayores a 85% para que se desarrolle normalmente el potencial enzimático (Figuroa, 1985). Se observó que a tiempos menores de 10 seg con microondas y de 60 seg con IR se obtiene una germinación que podía ser considerada para llevar a cabo el proceso de malteo, además que se emplean temperaturas cercanas a 38 °C que es límite fisiológico del grano de cebada. La forma de la curva de la Figura 18, también es muy similar a la reportada por Campaña *et al.* (1986) y Campaña *et al.* (1993). Por lo que en base a lo anterior se seleccionaron los tiempos de 0, 4 seg (32 °C) y 8 seg (47 °C) para microondas y para infrarrojo tiempos 0, 37 seg (35 °C) y 54 seg (38 °C).

## **5.2 Efecto de la irradiación sobre la calidad**

### **5.2.1 Extracto de malta**

Recientes trabajos realizados por Rodríguez (2010) y Hernández (2011) demostraron que la irradiación con microondas a tiempos cortos mejoraban la calidad de los productos finales obtenidos tanto de maíz como de trigo, es decir, del rendimiento de la tortilla e incremento en el volumen del pan respectivamente. Hasta el momento no existen estudios sobre el efecto de microondas en la calidad maltera de cebada. El extracto de malta es el factor de mayor importancia en la calidad maltera, debido a que mide la cantidad de azúcares fermentables o solubles (glucosa y maltosa) en el mosto, esto determina la cantidad de alcohol que puede ser producido por una tonelada de grano de cebada (Farmnote, 1999). Por ello el interés en observar el efecto de la irradiación electromagnética sobre dicho parámetro. En la Figura 19, se muestra la calidad maltera de las cuatro variedades de cebada sometidas a los diferentes tiempos con irradiación de microondas. Se puede observar en dicha figura que la cebadas

malteras Esmeralda y Esperanza sin tratamiento tienen un extracto de malta de 76.08 % y 77.49 %, ligeramente por arriba del límite mínimo permitido de 76 %. Sin embargo las cebadas forrajeras Adabella y Pastor Ortiz no cumplen con la especificación teniendo 66.95 % y 73.53 % de extracto de malta respectivamente. Al realizar el tratamiento con microondas se observó un incremento en el extracto de malta tanto para cebadas malteras como forrajeras.



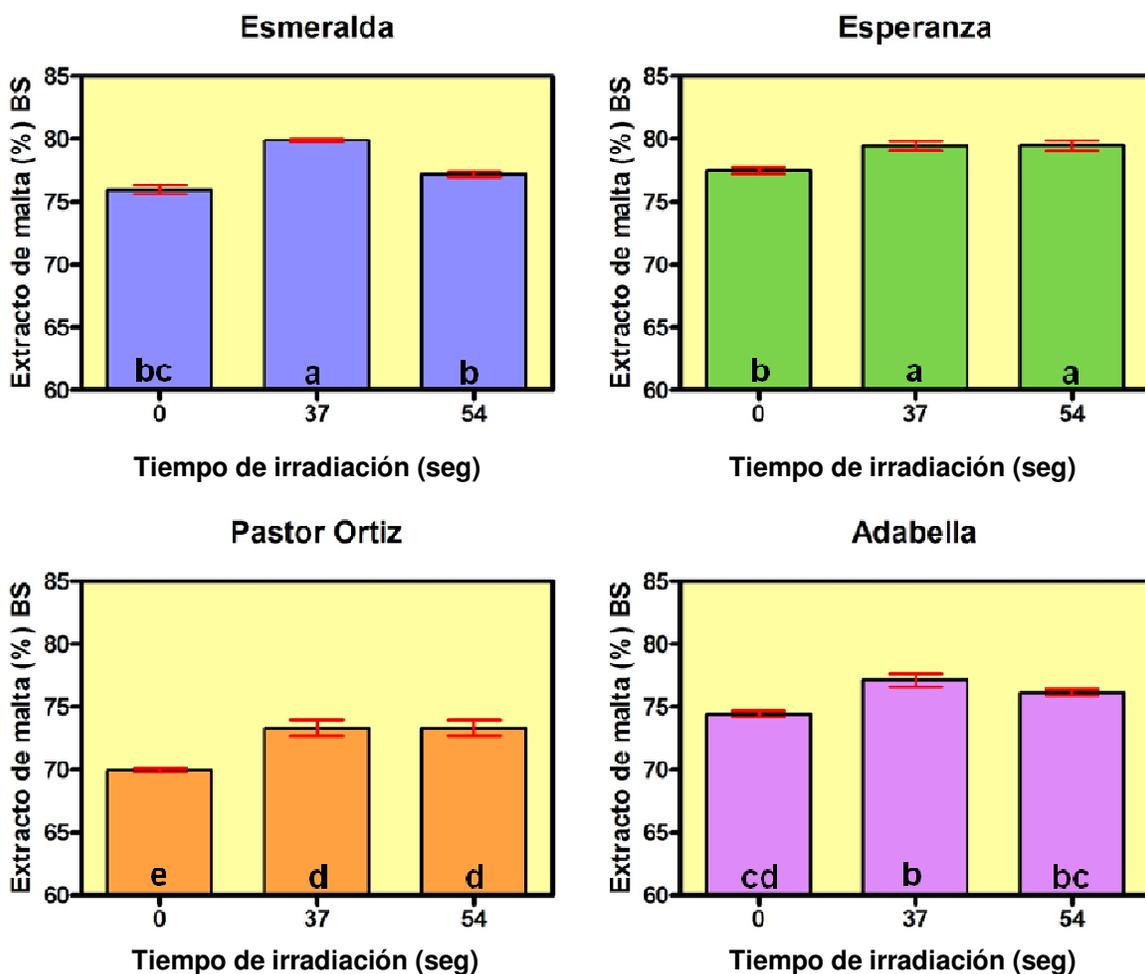
**Figura 19.** Efecto del tiempo de irradiación de microondas sobre el extracto de malta en las cuatro variedades de cebada. Letras diferentes en las barras representa que existen diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).

En la variedad Esmeralda se observó a tratamiento de 4 seg con microondas un incremento en el extracto de malta en comparación con el control, logrando un aumento de 7.61 %. Sin embargo a 8 seg se obtuvo una disminución

del extracto. Este comportamiento es similar al obtenido en las variedades Esperanza y Pastor Ortíz, dando lugar a un aumento de 4.59 % y 7.12 % respectivamente de extracto entre el control y el tratamiento de 4 seg; pero al aumentar la exposición a microondas a 8 seg el extracto disminuye, siendo en la variedad Esperanza a 8 seg (77.49 %) similar al control (77.08 %). Se observan diferencias significativas en las tres variedades mencionadas anteriormente entre el control y el tratamiento a 4 seg. En el caso de la variedad Adabella se tuvo un comportamiento diferente, es decir, que al incrementarse el tiempo de irradiación a microondas el extracto de malta aumentó teniendo a 4 seg 75.24 % y un mayor porcentaje de extracto a 8 seg 77.07 %, logrando un incremento de 3.54 %, habiendo diferencias significativas entre el control y el tratamiento a 8 seg.

Como se mencionó anteriormente las variedades forrajeras sin tratamiento no cumplen con la especificación, sin embargo al realizar el tratamiento con microondas a 4 seg la variedad Pastor Ortíz se aproxima al mínimo requerido, con respecto a la variedad Adabella a 8 seg se encuentra ligeramente por arriba del mínimo. Por lo tanto la irradiación con microondas ayuda a la obtención de mayor cantidad de azúcares fermentables en el mosto. Esto concuerda con lo obtenido por Warchalewshi *et al.* (2010) al observar la influencia del calentamiento de microondas (2450 MHz) sobre granos de trigo, donde el contenido de azúcares reductores se incrementó con la aplicación de microondas a tiempos de 15, 45 y 60 seg, pero disminuyó a tiempos de 90, 120 y 180 seg, además sugieren que este incremento de los azúcares reductores se debe a una mayor actividad de la amilasa endógena durante el calentamiento a temperaturas  $\leq 48^{\circ}\text{C}$ .

Por otra parte con respecto al tratamiento con IR también se observó que existía efecto sobre el extracto de malta siendo este menor que el tratamiento con microondas. En las cuatro variedades de cebada se obtuvo que a tratamiento de 37 seg con IR el extracto de malta se incrementara en comparación con el control (Figura 20).



**Figura 20.** Efecto del tiempo de irradiación de infrarrojo sobre el extracto de malta en las cuatro variedades de cebada. Letras diferentes en las barras representa que existen diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).

La variedad Esmeralda a 0 seg se encuentra muy cerca del mínimo de la especificación (75.97%) al realizar el calentamiento con IR a 37 seg el extracto se incrementa en un 3.93%, pero a tiempos mayores de irradiación de 54 seg el extracto disminuye en comparación con el tratamiento de 37 seg habiendo diferencias significativas entre tratamiento. En la variedad Adabella se observa la misma tendencia donde se obtuvo un incremento de 2.72% a 37 seg, el control sin tratamiento (74.42%) no cumple con la especificación, pero tanto a 37 y 54 seg de irradiación esta variedad ya está dentro de los requerimientos con 77.14% y

76.13% de extracto respectivamente. Ambas variedades siguen un comportamiento similar al observado con microondas.

En lo que corresponde a las variedades Esperanza y Pastor Ortíz se observó que el calentamiento de IR, a los tiempos seleccionados, aumentaba el extracto de malta en comparación con el control, pero este se mantenía sin cambio entre los tratamientos. La variedad Esperanza mostró un incremento de extracto de malta de aproximadamente 2% y Pastor Ortíz 3.88%, siendo esta última una malta de mala calidad aún con el tratamiento de IR por tener valores entre 69-74% de extracto, no superando el mínimo de la especificación. Sawai *et al.* (2004) obtuvieron resultados similares al utilizar la radiación de IR sobre camote en presencia de  $\beta$ -amilasa, ellos demostraron que a temperaturas menores de 70°C la cantidad de maltosa se incrementaba debido a la radiación, sin embargo a temperaturas altas bajaba la concentración de maltosa, los autores lo atribuyen a daño sobre la enzima produciendo su inactivación.

El tratamiento con irradiación de microondas e infrarrojo incremento la calidad maltera de las cebadas que son usadas para este rubro (Esmeralda y Esperanza) y mejora la calidad de la cebada forrajera Adabella que podría ser usada como cebada maltera después del proceso de irradiación. Sin embargo la variedad Pastor Ortíz aún con tratamiento esta fuera de la especificación, sería rechazada para la industria maltera, pero era importante conocer los efectos que tenía la exposición de microondas e infrarrojo sobre este tipo de variedad por lo cual se continuo con su estudio.

### **5.2.2 Diferencia de extractos**

En la diferencia de extractos, refiriéndose a la diferencia entre extracto de molienda fina y extracto de molienda gruesa, este parámetro es un indicador del grado de modificación del grano desde el punto de vista de carbohidratos.

En el tratamiento con microondas no se observaron diferencias significativas entre el control y los tratamientos tanto a 4 seg como a 8 seg en las

cuatro variedades de cebada (Cuadro 6). Comportamiento similar fue observado con el tratamiento de IR en el cual no hubo diferencias significativas entre el control y los tratamientos así como entre estos. La diferencia de extractos para ambos tratamientos se encuentra entre 2 a 4 % y de acuerdo al cuadro 4 se obtuvo una modificación de la malta entre buena y regular, teniendo mejor modificación las cebadas malteras. En el grano modificado la permeabilidad de las partículas es muy alta y no existen zonas dentro de la célula que escapen al ataque enzimático, por lo que se espera entonces que el extracto de molienda gruesa sea muy semejante al extracto de molienda fina (Figuroa, 1985).

**Cuadro 6.** Diferencia de extractos de malta de diferentes variedades de cebada irradiada<sup>†</sup>.

Variedad	Microondas		Infrarrojo	
	t. (seg)	Dif. De Ext. (%)	t. (seg)	Dif. De Ext. (%)
Esmeralda	0	2.50ab	0	2.29c
	4	2.03b	37	2.46bc
	8	2.82ab	54	2.79abc
Esperanza	0	3.34ab	0	2.87abc
	4	2.84ab	37	3.66ab
	8	2.31ab	54	2.39bc
Pastor Ortíz	0	3.04ab	0	3.37abc
	4	3.53ab	37	3.99a
	8	3.13ab	54	3.24abc
Adabella	0	3.70a	0	3.09abc
	4	3.45ab	37	3.60abc
	8	3.25ab	54	3.71abc
Especificación <sup>††</sup>		Mín 2.5		

t = tiempo de irradiación; Dif. De Ext. (Diferencia de Extractos).

<sup>†</sup> Medias seguidas con la misma letra en cada columna no son significativamente diferentes ( $P \leq 0.05$ ).

<sup>††</sup> Especificaciones de calidad para nuevas variedades para la industria cervecera (Figuroa, 1985).

### 5.2.3 Poder diastásico

El poder diastásico determina la actividad de algunas enzimas de la malta como  $\alpha$ -amilasa,  $\beta$ -amilasa y dextrinasa límite para producir azúcares reductores. Las enzimas diastásicas convierten el almidón del grano en azúcares solubles (o

extracto de malta). Los niveles de varias enzimas diastásicas son importantes para lograr una calidad estándar requerida por los compradores de malta. Bajos niveles de diastasas están asociados con un bajo potencial de extracto de malta. El poder diastásico es una medición de la actividad enzimática de la malta. Como las enzimas diastásicas son proteínas, su nivel está directamente relacionado con la concentración de proteína en el grano (Farmnote, 1999). En el cuadro 7 se observan los valores obtenidos del poder diastásico de las maltas de cada una de las variedades. Las variedades de cebada sin tratamiento, presentaron diferencias significativas en el poder diastásico, las variedades con menor poder diastásico fueron Esmeralda y Adabella estando por debajo del mínimo de la especificación (125 °L), la variedad Esperanza se encuentra del rango permitido, sin embargo Pastor Ortíz supera el máximo permitido de 170 °L.

**Cuadro 7.** Poder diastásico de malta obtenida de diferentes variedades de cebada irradiada<sup>†</sup>.

Variedad	Microondas		Infrarrojo	
	t. (seg)	P. D. °L (B.S.)	t. (seg)	P. D. °L (B.S.)
Esmeralda	0	102.24c	0	115.33bcd
	4	127.19b	37	128.26ab
	8	127.76b	54	125.66abc
Esperanza	0	130.73b	0	126.95ab
	4	125.85b	37	143.38a
	8	137.87b	54	124.58abc
Pastor Ortíz	0	181.15a	0	133.71a
	4	179.05a	37	126.74ab
	8	183.87a	54	130.41ab
Adabella	0	92.98c	0	98.56cd
	4	96.09c	37	95.20cd
	8	88.84c	54	95.20d
Especificación <sup>††</sup>		125-170		

t = tiempo de irradiación; P. D. (Poder Diastásico), °L (Grados Lintner), B. S. (Base seca).

<sup>†</sup> Medias seguidas con la misma letra en cada columna no son significativamente diferentes ( $P \leq 0.05$ ).

<sup>††</sup> Especificaciones de calidad para nuevas variedades para la industria cervecera (Figueroa, 1985).

Con respecto al poder diastásico se debe encontrar dentro de los límites permitidos por la especificación (125 a 170 °L) porque si existe una deficiencia de enzimas diastásicas no se logra una buena conversión del almidón en azúcares reductores y en el caso opuesto al haber mayor cantidad de enzimas se llega a un punto en el cual no se logra una buena hidrólisis del almidón por saturación del sistema enzimático, además que durante la germinación se puede obtener mayor cantidad de azúcares reductores y estos sean empleados para el crecimiento de la raíz y plúmula del grano (Hornsey, 1999). Al llevar a cabo la irradiación tanto con microondas como con IR se determinó que no existía un efecto significativo de dicha irradiación sobre los sistemas enzimáticos, representado en este caso por el poder diastásico, en cual no se presentaron diferencias significativas entre el control y los tratamientos, así como entre los tratamientos de 4 – 8 seg para microondas y de 37-54seg para infrarrojo.

Las diferencias encontradas entre variedades se pueden atribuir al tipo de cebada y así como por la región donde fue cultivada debido al tipo de suelo, así como las condiciones de nitrógeno que existían al desarrollarse la planta. La calidad maltera está determinada por las condiciones ambientales principalmente y la influencia del genotipo. El genotipo es muy importante en el potencial de la calidad de una variedad donde se encuentra englobado el sistema enzimático (Farmnote, 1999). Además algunas de las diferencias encontradas se pueden deber a algunos inconvenientes durante la etapa de secado en el proceso de malteo.

#### **5.2.4 Actividad $\alpha$ -Amilasa**

La actividad de  $\alpha$ -amilasa sigue la misma tendencia que la observada con el poder diastásico, es decir, las variedades sin tratamiento de irradiación por sí misma al ser de diferentes regiones presentan diferencias significativas en el contenido de  $\alpha$ -amilasa, que varía entre 23 y 61 U. D. (Cuadro 8). La variedad Adabella es la que presentó menor contenido de  $\alpha$ -amilasa por debajo de 35 U. D. que es el mínimo de la especificación. Las variedades Esmeralda y Esperanza se encuentran por arriba del mínimo requerido, a excepción del control de la variedad

Esmeralda que se usó para la irradiación con microondas, en la cual el contenido de  $\alpha$ -amilasa es menor y no supera el mínimo necesario, como ya se mencionó anteriormente posiblemente se deba a problemas en la etapa de secado ya que está es la importante en lo que se refiere a los sistemas enzimáticos y la estructura del grano para la posterior maceración. Por otra parte Pastor Ortiz es la que presenta mayor actividad de  $\alpha$ -amilasa, así como poder diastásico lo cual es bueno para el uso que se le da como cebada forrajera.

**Cuadro 8.** Efecto de microondas e infrarrojo sobre la actividad de  $\alpha$ -amilasa de malta de diferentes variedades de cebada<sup>†</sup>.

Variedad	Microondas		Infrarrojo	
	t. (seg)	$\alpha$ -Amilasa (U. D.) BS	t. (seg)	$\alpha$ -Amilasa (U. D.) BS
Esmeralda	0	23.96c	0	38.33b
	4	33.55b	37	34.18bc
	8	31.62bc	54	31.92bcd
Esperanza	0	34.98b	0	32.43bcd
	4	29.00bc	37	34.66bc
	8	31.27bc	54	36.16bc
Pastor Ortiz	0	61.40a	0	50.93a
	4	61.46a	37	51.71a
	8	60.30a	54	53.47a
Adabella	0	28.34bc	0	26.44d
	4	27.77bc	37	28.91cd
	8	28.19bc	54	25.92d
Especificación <sup>††</sup>		Mín. 35		

t = tiempo de irradiación; B. S. (Base seca); U. D. (Unidades de dextrinización) a 20 °C.

<sup>†</sup> Medias seguidas con la misma letra en cada columna no son significativamente diferentes ( $P \leq 0.05$ ).

<sup>††</sup> Especificaciones de calidad para nuevas variedades para la industria cervecera (Figuerola, 1985).

Comparando el control con los tratamientos de microondas no existen diferencias significativas en cada una de las variedades (cuadro 8), únicamente en la variedad Esmeralda a 0 seg existen diferencias significativas con el tratamiento a 4 seg. Estudios realizados con microondas han demostrado que se puede producir una inactivación de enzimas, esto es por el uso de tiempos de irradiación

prolongados logrando temperaturas mayores a los 60°C, ejemplo, Tajchakavit y Ramaswamy (1997) usaron el calentamiento de microondas como una pasteurización del jugo de naranja logrando la inactivación de la pectin-metil-esterasa a 70°C, así como Lau y Tang (2002) a una temperatura de 88°C por 30 min inactivaron a la enzima peroxidasa en espárragos. Aunque sean enzimas diferentes a las presentes en el grano de cebada y con diferentes características fueron inactivadas por el calentamiento de microondas a altas temperaturas. Sin embargo en este trabajo de investigación las temperaturas producidas por calentamiento de microondas a 4 y 8 seg no superan los 50°C, con lo cual no se da un daño en las enzimas, ya que no existe una desnaturalización de proteínas a esa temperatura que pudiera disminuir la eficiencia de estas. Además de que  $\alpha$ -amilasa es resistente al calor y  $\beta$ -amilasa se inactiva a los 70°C. Esto concuerda con lo reportado por Warchalewski y Gralik (2010), a tiempos de 15, 45 y 60 seg de calentamiento de microondas no se observaron diferencias significativas en la actividad de la amilasa, solo a tiempos mayores de 90 seg y temperaturas  $\geq 64^\circ\text{C}$  observaron una disminución en la actividad enzimática.

El tratamiento con IR mostró el mismo comportamiento que microondas en el contenido de  $\alpha$ -amilasa. El control de cada una de las variedades no presentó diferencias significativas con respecto a los tratamientos de 37 y 54 seg. Al igual que las microondas también el IR se ha empleado para la inactivación de enzimas lo cual se logra a temperaturas altas como Wiriyumpaiwong *et al.* (2004) mostraron que en un rango de temperatura de 100-160°C se lograba la inactivación de la ureasa en la soya a tiempos de 0-30 min. No obstante en el presente trabajo no se usan temperaturas altas con infrarrojo, no se superan los 40°C, por lo tanto no se logra una inactivación de enzimas.

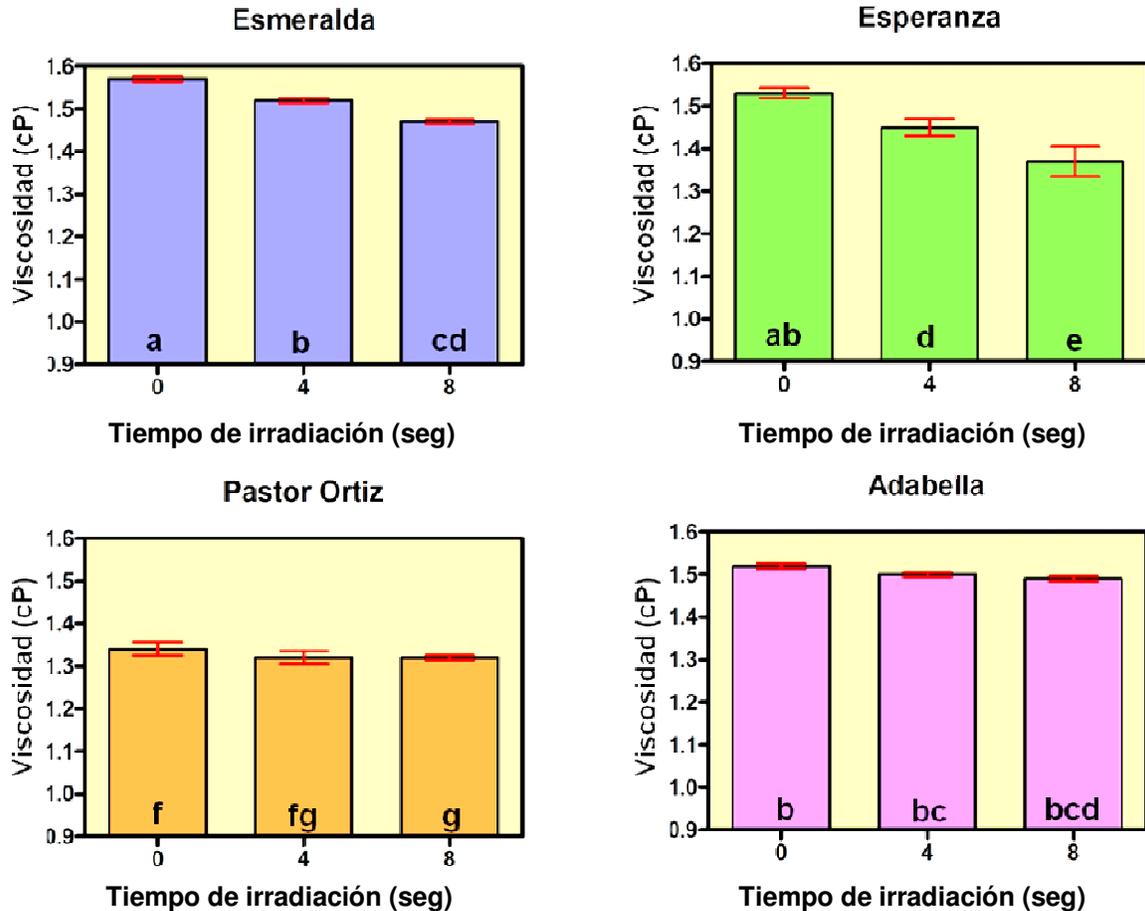
### **5.2.5 Viscosidad del mosto**

La viscosidad del mosto mide indirectamente la cantidad de gomas solubles en agua. Esto también es un indicativo del estrés al cual ha estado la planta de cebada durante su crecimiento. El genotipo también tiene una mayor influencia sobre la viscosidad del mosto. Además la viscosidad es una medida

indirecta del contenido de  $\beta$ -glucanos. El grano de cebada con baja viscosidad germina mejor que los granos con alto contenido de pared celular. Esta pared celular puede restringir la conversión de almidón a extracto de malta (Farmnote, 1999).

Posiblemente ningún paso en la elaboración de cerveza es más difícil que la filtración del mosto, por lo que controlar la viscosidad del extracto es un aspecto de calidad muy importante. En la determinación de la viscosidad del mosto se observaron diferencias significativas entre variedades.

En cada una de las variedades se observó que la viscosidad del mosto disminuyó al ser irradiado el grano de cebada con microondas como se muestra en la Figura 21. A tiempo de 0 seg la variedad Esmeralda mostró una viscosidad del mosto de 1.57 cP, esta disminuyó conforme se incrementó el tiempo de exposición a las microondas teniendo a 4 seg una viscosidad de 1.52 cP y a 8 seg 1.47 cP, habiendo diferencias significativas entre el control y los tratamientos. La variedad Esperanza manifestó una tendencia similar a la de Esmeralda. En la variedad Pastor Ortíz se encontró que no existían diferencias significativas entre el control y el tratamiento a 4 seg, pero si con el tratamiento de 8 seg. Un comportamiento diferente se observó en la variedad Adabella en la cual no se tuvieron diferencias significativas entre el control y los tratamientos con microondas, a pesar de esto si se observó una ligera disminución de la viscosidad del mosto, teniendo para el control 1.52 cP, los tratamientos a 4 seg 1.50 cP y a 8 seg 1.49 cP. El valor máximo permitido de viscosidad es 1.50 cP por lo que el control de las variedades Esmeralda y Esperanza no cumplen con esto, al realizar la aplicación de microondas la viscosidad del mosto disminuyó, dando lugar a que estas variedades se encuentren dentro de la especificación. Resultados similares fueron obtenidos por Svanberg *et al.* (1997) en ejotes, usando un microondas con una potencia de 700 W y tiempos de 4 min con recalentamientos de una o dos veces más 2 min, estos autores refieren que la viscosidad de la solución con ejotes disminuyó con la cocción de microondas siendo el mejor tiempo a 4 min en comparación con el cocimiento tradicional.

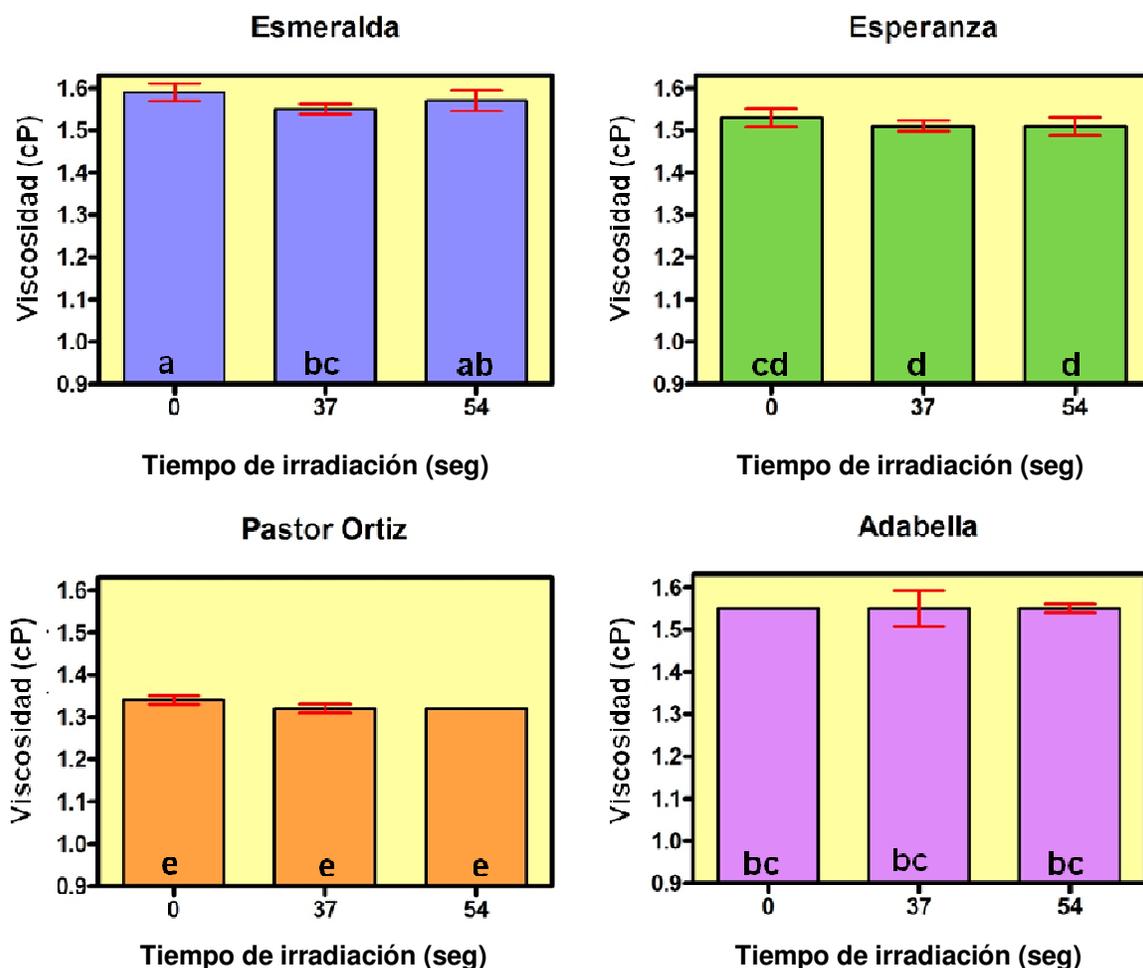


**Figura 21.** Efecto de la irradiación de microondas sobre la viscosidad del mosto. Letras diferentes en las barras representa que existen diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).

El calentamiento de IR tuvo menor efecto que el calentamiento con microondas sobre la viscosidad del mosto como se muestra en la Figura 22. En la variedad Esmeralda se presentó una disminución de la viscosidad del mosto a tiempos cortos de irradiación habiendo diferencias significativas entre el control y el tratamiento a 37 seg, en cambio a mayor tiempo de exposición al IR la viscosidad se incrementó siendo similar al control.

Para la variedad Esperanza se obtuvo un comportamiento similar al de Esmeralda, la viscosidad disminuyó para ambos tiempos de irradiación, aunque la diferencia es mínima se se tiene un valor igual o cercano al máximo permitido (1.50 cP). Pastor Ortiz exhibió la misma tendencia, la viscosidad disminuyó al

realizar el calentamiento con IR en comparación con el control (1.34 cP), pero entre los tratamientos se tuvo la misma viscosidad (1.32 cP). En el caso de la variedad Adabella no se observó un efecto del IR sobre la viscosidad permaneciendo en 1.55 cP. Para estas tres últimas variedades mencionadas no se tuvieron diferencias significativas entre el control y los tratamientos.



**Figura 22.** Efecto de la irradiación de infrarrojo sobre la viscosidad del mosto. Letras diferentes en las barras representa que existen diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).

### 5.2.6 Nitrógeno total de malta y nitrógeno soluble en mosto

La proteína de la malta puede tener un papel controlador de la actividad de ciertas amilasas, por lo que puede condicionar el nivel de modificación

amilolítica. Por otro lado, altos contenidos de proteína y niveles bajos de modificación de la malta pueden dar lugar a una baja fermentabilidad (Hornsey, 1999). En los cuadros 9 y 10 se observa que las muestras sin tratamiento poseen diferencias significativas entre las variedades en lo que respecta al contenido total de proteína en malta, siendo la malta de la variedad Esperanza con mayor contenido proteico, seguida de la variedad Esmeralda, Adabella y la más baja en proteína Pastor Ortiz, estando dentro de lo que establece la especificación 10.5-13.5%.

El calentamiento con microondas no afectó el contenido total de proteína en la malta al no existir diferencias significativas entre el control y los tratamientos de las cuatro variedades. Resultados similares fueron obtenidos por Walde *et al.* (2002) y Grundas *et al.* (2008) al someter al trigo a calentamiento de microondas, observaron que no existían diferencias significativas en el contenido de proteína total entre el control y los tratamientos con microondas a tiempos menores a 60 seg y sin sobrepasar los 48°C, porque a tiempos de 90-180 seg la estructura y características funcionales de las proteínas del trigo cambiaron. La funcionalidad del gluten fue alterada observándose la ausencia de elasticidad de la masa. Por su parte el calentamiento con IR tampoco mostró efecto sobre el contenido total de proteína de la malta (Cuadro 10) a tiempos de 37 y 54 seg. Lo anterior concuerda con lo obtenido por Fasina *et al.* (1999) al someter al grano de cebada a calentamiento con IR a temperaturas de 105 a 150°C y no obtuvieron variación en el contenido de proteína total, tanto para cebada perlado como con cascarilla.

En lo que respecta al contenido de proteína soluble en el mosto para ambos tratamientos microondas e IR, se observó una tendencia similar al contenido total de proteína en la malta (cuadro 9 y 10). Las Variedades Esmeralda y Esperanza se encontraron dentro de la especificación (4.0-6.10%) para el contenido de proteína soluble. La variedad Pastor Ortiz y Adabella tuvieron niveles por debajo del mínimo de la especificación, esto sugiere que no hay una buena degradación de las proteínas en el grano durante la germinación o el malteo. Por otra parte Esmeralda y Esperanza son diferentes significativamente con Pastor

Ortíz y Adabella. Las muestras con o sin tratamiento de microondas no presentaron diferencias significativas en relación a este parámetro, por lo ya mencionado anteriormente que las microondas y el IR a tiempos cortos no afectan el contenido de las proteínas.

**Cuadro 9.** Contenido de nitrógeno de malta y mosto de cebada en función del tiempo de irradiación de microondas<sup>†</sup>.

Variedad	t. (seg)	Prot. Total (%) BS	Prot. Sol. (%) BS	Índice de Kolbach
Esmeralda	0	12.68c	5.02a	39.55ab
	4	12.85bc	5.13a	39.93ab
	8	12.65c	5.10a	40.29a
Esperanza	0	13.48ab	5.12a	38.02ab
	4	13.77a	5.20a	37.79ab
	8	13.65a	5.14a	37.34bc
Pastor Ortíz	0	10.33e	3.49b	33.81d
	4	10.59e	3.70b	34.91cd
	8	10.61e	3.41b	32.17de
Adabella	0	11.97d	3.67b	30.69e
	4	11.93d	3.61b	30.23e
	8	11.98d	3.64b	30.37e
Especificación <sup>††</sup>		10.5 – 13.5	4.0 – 6.10	38 – 44

t = tiempo de irradiación; B. S. (Base seca); Prot. Total (Proteína total en malta); Prot. Sol. (Proteína soluble en mosto).

<sup>†</sup> Medias seguidas con la misma letra en cada columna no son significativamente diferentes ( $P \leq 0.05$ ).

<sup>††</sup>. Especificaciones de calidad para nuevas variedades para la industria cervecera (Figueroa 1985).

El índice de Kolbach es la relación entre el contenido de proteína total y la soluble, es un indicativo de la degradación de la proteína por efecto de las enzimas durante la maceración. Las variedades que mejor índice de Kolbach mostraron fueron Esmeralda y Esperanza (cuadro 9 y 10), ambas variedades cumplen con la especificación (38-44), lo cual está relacionado con que estas variedades tienen un buen contenido de proteína soluble en relación al contenido total de proteína de la malta. En el caso de la variedad Pastor Ortíz y Adabella los valores obtenidos del índice de Kolbach están por debajo del mínimo requerido por la especificación. Por otra parte la irradiación con microondas e IR no afectan

esta relación entre el contenido de proteína total y la soluble, por lo que no existen diferencias significativas en el índice de Kolbach entre el control y los tratamientos en cada una de las variedades para los dos tipos de radiación electromagnética.

**Cuadro 10.** Contenido de nitrógeno de malta y mosto de cebada en función del tiempo de irradiación de infrarrojo<sup>†</sup>.

Variedad	t. (seg)	Prot. Total (%) BS	Prot. Sol. (%) BS	Índice de Kolbach
Esmeralda	0	12.07b	4.46b	36.97a
	37	12.27b	4.48b	36.56ab
	54	12.12b	4.48b	36.96a
Esperanza	0	13.54a	4.70a	34.76bc
	37	13.55a	4.69a	34.61c
	54	13.52a	4.70a	34.75bc
Pastor Ortíz	0	10.58d	3.31c	31.34d
	37	10.59d	3.28c	31.01d
	54	10.66d	3.31c	31.05d
Adabella	0	11.25c	3.38c	30.10d
	37	11.16c	3.35c	30.03d
	54	11.05cd	3.34c	30.23d
Especificación <sup>††</sup>		10.5 – 13.5	4.0 – 6.10	38 – 44

t = tiempo de irradiación; B. S. (Base seca); Prot. Total (Proteína total en malta); Prot. Sol. (Proteína soluble en mosto).

<sup>†</sup> Medias seguidas con la misma letra en cada columna no son significativamente diferentes ( $P \leq 0.05$ ).

<sup>††</sup>. Especificaciones de calidad para nuevas variedades para la industria cervecera (Figueroa 1985).

### 5.3 Efecto de la irradiación en las propiedades mecánicas del grano

La dureza es un término usado para considerar los factores que afectan el procesamiento y calidad del producto final (Pomeranz y Williams, 1990). En la cebada ha sido medida por medio del índice de tamaño de partícula, índice de perlado, tiempo de molienda, energía de molienda, almidón dañado, análisis de NIR y SKCS entre otros (Halverson y Zeleny, 1988; Baik y Ulrich, 2008; Gamlath *et al.*, 2008, López-Perea *et al.*, 2008) Varios investigadores han definido la dureza en función de las propiedades mecánicas del material (Gates y Dobraszczyk 2004, Ponce-García *et al.*, 2008) tales como el esfuerzo y módulo de

elasticidad, este último es el que más información puede aportar sobre las propiedades mecánicas, por ello se evaluó en este trabajo de investigación.

Las cebadas malteras generalmente son clasificadas como granos suaves y las forrajeras como granos duros (Allison *et al.*, 1976; López-Perea *et al.*, 2005, 2008). Haciendo referencia a lo anterior la variedad Pastor Ortiz que es una cebada forrajera, es la que presentó mayor dureza que el resto de las variedades como se muestra en el cuadro 11.

**Cuadro 11.** Efecto del tiempo de irradiación de microondas e infrarrojo sobre las propiedades mecánicas entre cultivares de cebada<sup>†</sup>.

Variedad	Microondas		Infrarrojo	
	t. (seg)	Fuerza (N)	t. (seg)	Fuerza (N)
Esmeralda	0	68.90ab	0	62.08bc
	4	47.24d	37	47.33cd
	8	62.22bcd	54	52.53cd
Esperanza	0	64.58abc	0	59.72cd
	4	62.76abcd	37	52.94cd
	8	65.64abc	54	58.64cd
Pastor Ortiz	0	79.99a	0	77.60a
	4	60.99bcd	37	76.33ab
	8	62.43bcd	54	76.77ab
Adabella	0	56.02bcd	0	54.86cd
	4	55.53bcd	37	46.25d
	8	51.29cd	54	49.41cd

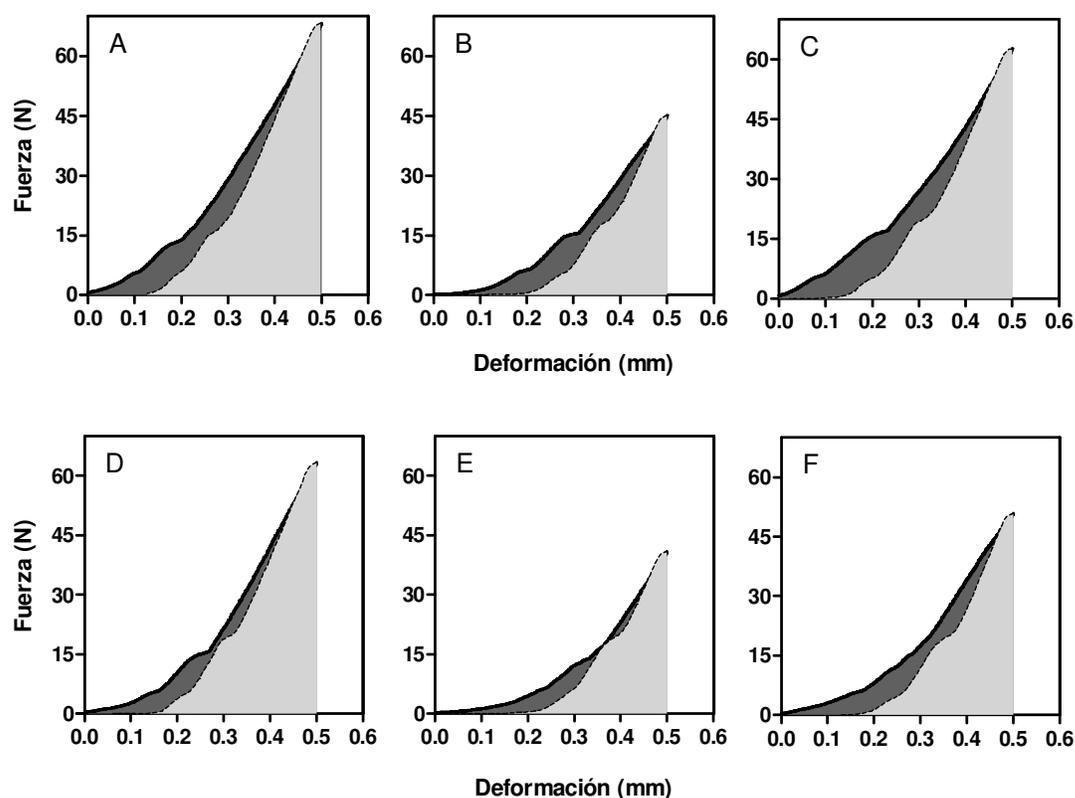
t = tiempo de irradiación.

<sup>†</sup> Medias seguidas con la misma letra en cada columna no son significativamente diferentes ( $P \leq 0.05$ ).

El calentamiento de microondas e IR mostraron afectar la dureza del grano, en las cuatro variedades de cebada hubo una disminución de la dureza al ser tratados los granos a 4 seg con microondas y a 37 con IR (Cuadro 11). Al aumentar el tiempo de irradiación el efecto se revierte, dando lugar a granos más duros en comparación a la dureza obtenida en tiempos menores. La variedad Adabella con irradiación de microondas es la excepción al comportamiento

observado, donde la dureza disminuye al incrementarse el tiempo de irradiación. En el tratamiento de infrarrojo Pastor Ortiz es la que mostró una tendencia diferente dando una fuerza similar entre tratamientos. Aun habiendo ligeros cambios en la dureza del grano sometidas a microondas e IR, no se obtuvieron diferencias significativas.

En la figura 23 se muestra con mayor claridad la tendencia que sigue la dureza del grano de cebada al ser irradiado con microondas e IR.

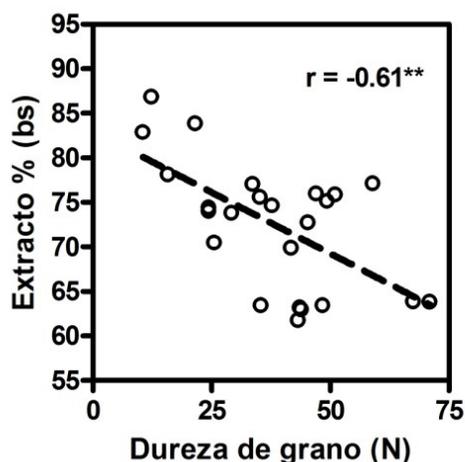


**Figura 23.** Curva típica del desplazamiento de fuerza de la variedad Esmeralda con tratamiento de microondas: A (0 seg), B (4 seg), C (8 seg) y tratadas con IR: D (0 seg), E (37 seg), F (54 seg). La línea continua es la carga y la línea punteada es la descarga. La zona de gris oscura es el trabajo elástico y la zona gris claro es el trabajo plástico.

Estudios realizados por Rodríguez (2011) sobre diferentes tipos de maíz encontró que al someter al grano a irradiación de microondas la dureza descendía hasta tiempo de 15 seg, sin embargo a tiempos mayores hasta 45 seg la dureza

volvía a elevarse. También Grundas *et al.* (2008) observó el mismo efecto pero en trigo. En cuanto a la exposición a infrarrojo Fasina *et al.* (2001) demostraron que el calentamiento con este tipo de energía disminuía la dureza en diferentes leguminosas, produciendo a altas temperaturas de 150°C que los granos fueran más frágiles y susceptibles a la ruptura por la pérdida de agua.

La dureza del grano de cebada mostró tener una correlación altamente significativa ( $r = -0.61$ ;  $P \leq 0.001$ ) con el extracto de malta obtenido, como se puede apreciar en la Figura 24. A mayor dureza del grano de cebada se dificulta la obtención del extracto de malta dando lugar a maltas pobres. Llorca (1995) indicó que cebadas con mayor dureza presentan una mayor cantidad de endospermo vítreo y una mayor compactación de los gránulos de almidón, así como una mayor cantidad de matriz proteica que envuelve dichos gránulos, dificultando la transformación del endospermo del grano de cebada durante la germinación



**Figura 24.** Correlación entre la dureza del grano y el porcentaje de extracto de las diferentes maltas.

Por otra parte en las cuatro variedades de cebada se observó que la variedad Pastor Ortiz es la que mostraba mayor módulo de elasticidad y la variedad Esmeralda la de más bajo módulo. Hernández (2011) y Rodríguez (2010) observaron que las microondas tenían efecto sobre el módulo de elasticidad de granos de trigo y maíz. El módulo descendía a tiempos de 0-15 seg, en la región I

como la designa Rodríguez (2010) y en la región II de 25-45 seg el módulo de elasticidad aumentaba nuevamente. En el presente estudio se trabajo en la zona I, observando que a tiempos cortos de 4 seg el módulo se redujo en las cuatro variedades (Cuadro 12). Al someter al grano a mayor tiempo de radiación el módulo aumentó, solo en la variedad Adabella se observó que el módulo continuaba disminuyendo. Tendencia similar a la obtenida en la dureza. Stasiak *et al.* (2007) usando un método con ultrasonido reportó valores del módulo de elasticidad de la cebada similares a los obtenidos de 80-90 MPa para cebadas de Polonia. Así como Bargale e Irudayaraj (1995) encontraron por método de compresión valore del módulo en granos de cebada de 80-120 MPa.

**Cuadro 12.** Efecto del tiempo de irradiación de microondas e infrarrojo sobre el módulo de elasticidad entre cultivares de cebada<sup>†</sup>.

Variedad	Microondas		Infrarrojo	
	t. (seg)	Módulo (MPa)	t. (seg)	Módulo (MPa)
Esmeralda	0	71.67bcd	0	69.32c
	4	59.93d	37	61.03c
	8	70.17cd	54	68.85c
Esperanza	0	77.49bcd	0	66.83c
	4	61.72d	37	57.64c
	8	75.84bcd	54	59.44c
Pastor Ortiz	0	107.69a	0	118.96a
	4	90.76abc	37	110.66a
	8	98.29ab	54	107.15ab
Adabella	0	83.97abcd	0	72.75bc
	4	70.31cd	37	54.83c
	8	64.58d	54	61.16c

t = tiempo de irradiación.

<sup>†</sup> Medias seguidas con la misma letra en cada columna no son significativamente diferentes ( $P \leq 0.05$ ).

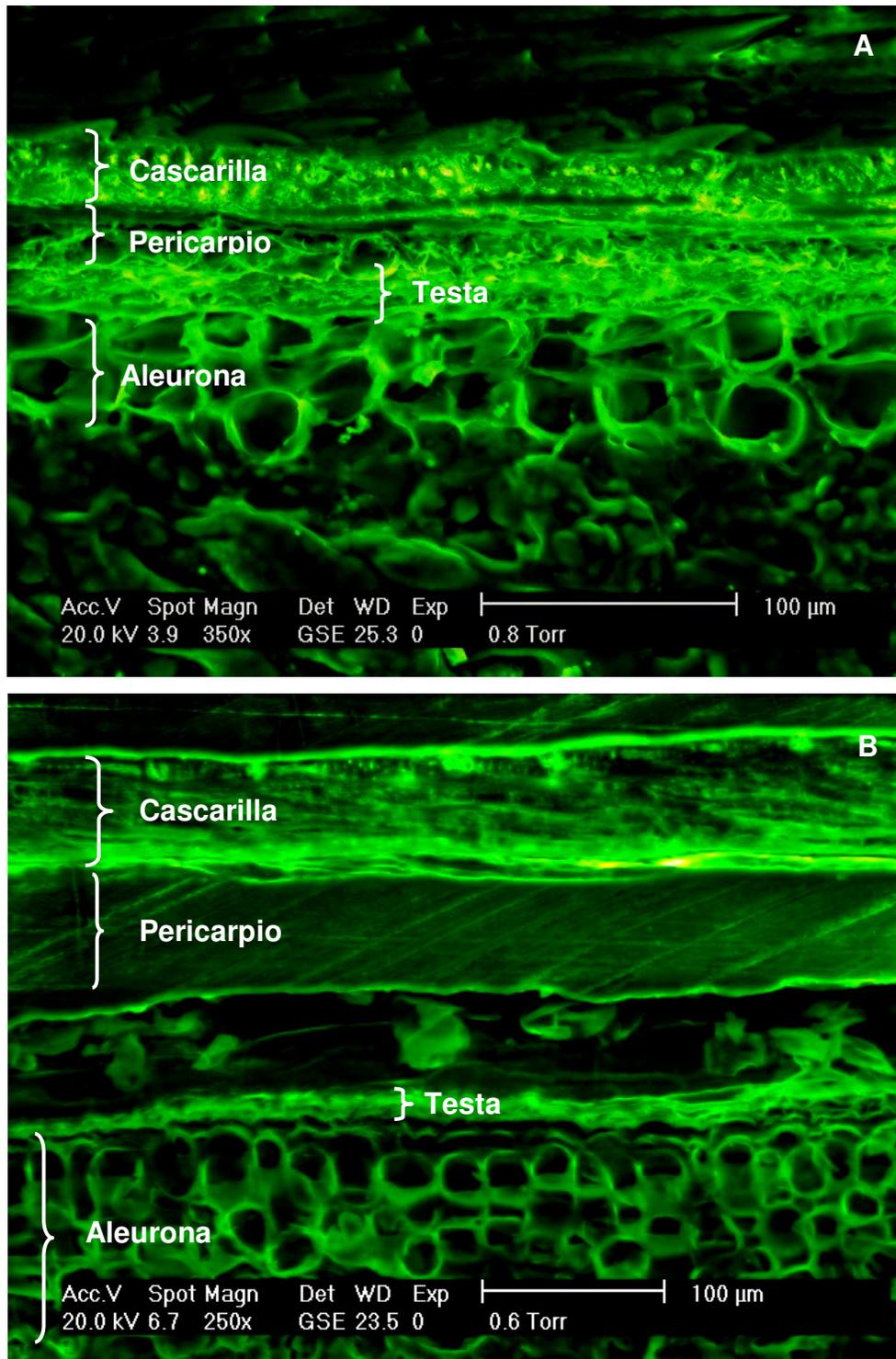
La exposición del grano de cebada a infrarrojo tuvo efecto sobre el módulo de elasticidad observándose un comportamiento semejante al obtenido con microondas. En las cuatro variedades el módulo se redujo a 37 seg, pero al

prolongar el calentamiento a 54 seg este se incrementó. No existen diferencias significativas al realizar los tratamientos, pero aunque sean mínimos estos cambios son suficientes como para producir un mayor rendimiento en el extracto de malta, posiblemente esto se debe a que al disminuir el módulo el grano adquiere mayor plasticidad haciéndolo más susceptible al ataque enzimático.

Se observó una diferencia entre los datos obtenidos de la dureza del grano y el módulo de elasticidad entre las variedades. En fuerza la variedad con menor dureza es Adabella, sin embargo en el módulo no lo fue, solo después de Pastor Ortiz. Esmeralda y Esperanza obtuvieron menos módulo de elasticidad que Adabella. Además la variedad Esmeralda tuvo mayor dureza que Esperanza y en el módulo fue inverso. Por tanto esto también demuestra que el módulo de elasticidad es una medición más precisa que da mayor información en sí que la dureza del grano, ya implica el trabajo elástico y plástico del grano de cebada.

#### **5.4 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)**

El salvado del grano de cebada maltera usualmente representa cerca del 7-14% del grano y esta es importante para evitar el rompimiento del grano durante su cosecha, transportación y almacenamiento, también en las operaciones industriales como el remojo y germinación durante el malteo, así como durante la filtración del mosto en el proceso de cervecería (Figuroa, 1985). El salvado de la cebada consta de diferentes capas las principales son el pericarpio, la testa y la aleurona. La pared celular del grano está conformada por diferentes polisacáridos entre ellos la celulosa, arabinoxilanos y  $\beta$ -glucanos, estos últimos son polisacáridos hemicelulosos, la proporción de cada polisacárido en la pared celular va a depender del tipo de tejido (Stone, 2006). En la figura 25, se muestra la variación del grosor de las diferentes capas del salvado del grano de cebada. Se muestra solo a la variedad Esmeralda como cebada maltera y a Pastor Ortiz como forrajera, esto se debe a que en las propiedades mecánicas mostraron diferencias marcadas entre el control de cada una y así poder observar mejor las diferencias que existen entre ellas de acuerdo a su pared celular.

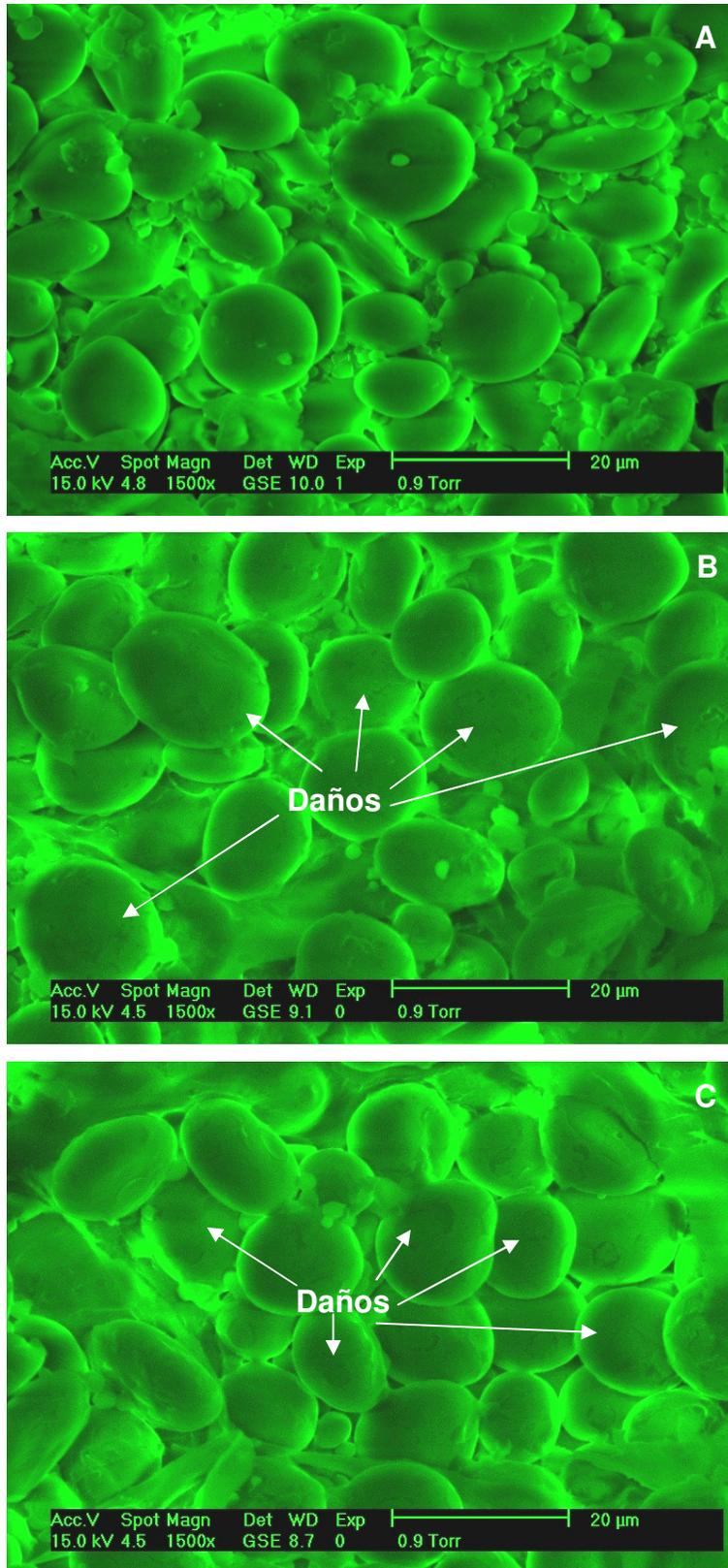


**Figura 25.** Micrografías de la cascarilla del grano de una cebada maltera y otra forrajera, siendo (A) Esmeralda y (B) Pastor Ortíz.

En las micrografías se observó que el salvado de la variedad maltera Esmeralda tiene menos grosor comparada con la variedad Pastor Ortíz a simple vista. El grosor del salvado para Esmeralda fue de  $\approx 106 \mu\text{m}$  y para Pastor Ortíz  $\approx 280 \mu\text{m}$ . Estos datos corresponden con lo reportado para buenas cebadas malteras que usualmente tienen cascarilla delgada en comparación con las cebadas forrajeras (Figueroa, 1985). También fueron determinados los grosores de cada una de las capas que conforman al salvado (cascarilla, pericarpio, testa y aleurona). En la cebada maltera se obtuvo de cascarilla  $23 \mu\text{m}$ , pericarpio  $21 \mu\text{m}$ , testa  $14 \mu\text{m}$  y  $48 \mu\text{m}$  de capa de aleurona, datos menores en relación a  $67 \mu\text{m}$  de cascarilla,  $72 \mu\text{m}$  de pericarpio,  $15 \mu\text{m}$  en testa y  $124 \mu\text{m}$  de aleurona en la variedad forrajera. La cebada forrajera Pastor Ortíz es aproximadamente 2.5 el grueso de la cebada Esmeralda, las diferencias están marcadas en la cascarilla, pericarpio y aleurona, el grosor de la testa es muy similar entre ellas.

Por los resultados anteriores se demostró que existe una relación entre el grosor del salvado del grano de cebada y las propiedades mecánicas del mismo, en resultados anteriores el módulo para la variedad Esmeralda fue  $\approx 70 \text{ MPa}$  y  $\approx 110 \text{ MPa}$  en Pastor Ortíz (Cuadro 11), siendo la cebada forrajera la que necesita mayor energía para ser deformada a causa del grosor del salvado, entre otras características como la matriz proteica, la humedad, entre otras. Esta relación se debe a que la pared celular es la primera barrera que el grano posee ante cualquier deformación o ruptura.

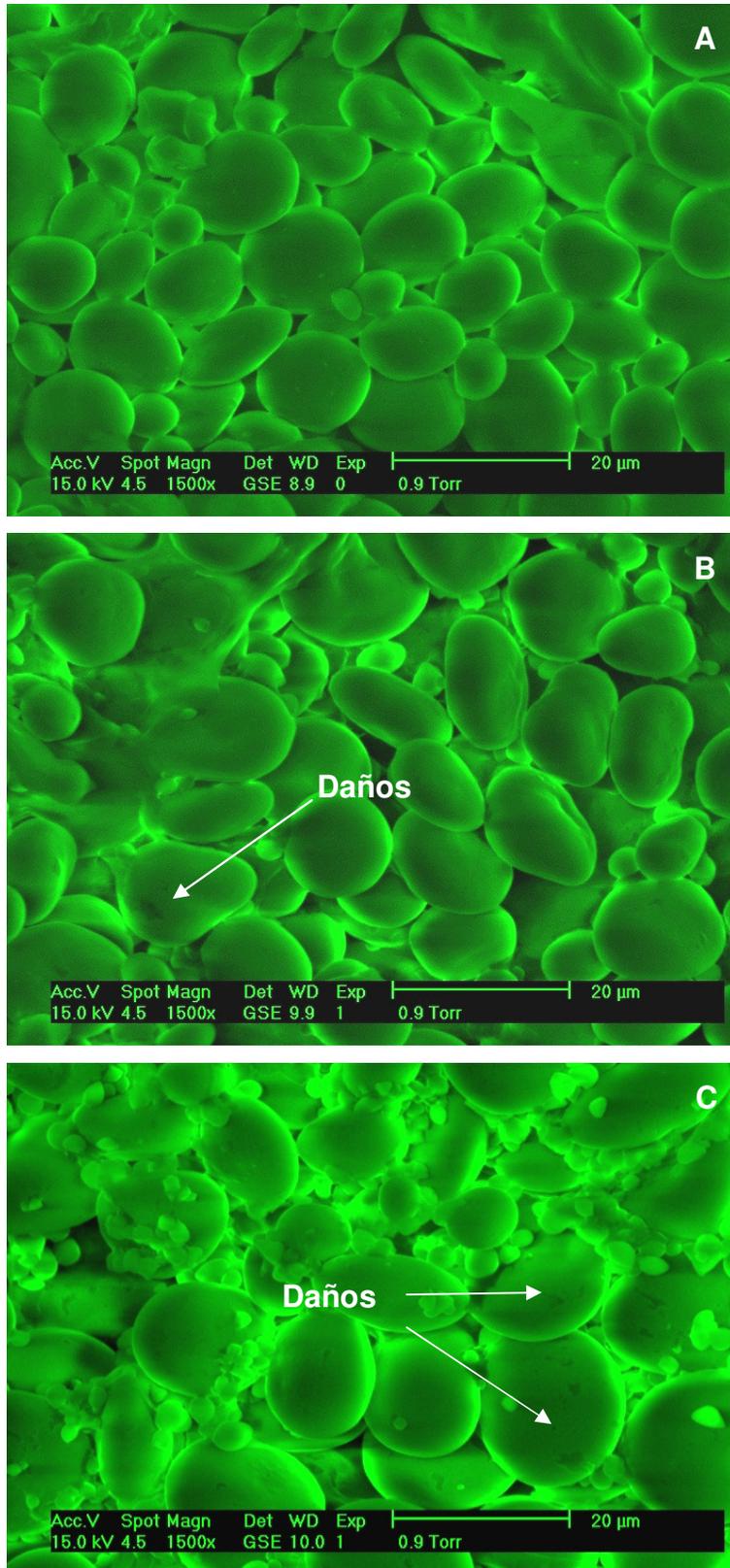
Por otra parte también fueron observados los efectos de la irradiación de microondas e IR sobre la estructura de los gránulos de almidón del grano de cebada. En las Figura 26 se observan las micrografías de los gránulos de almidón después de la etapa de remojo previamente el grano irradiado con microondas. Las micrografías fueron tomadas después de la etapa de remojo para observar como influía la irradiación en el hinchamiento de los gránulos y si era posible observar algunos daños en la superficie de los mismos.



**Figura 26.** Micrografías de los gránulos de almidón después de la etapa de remojo de Esmeralda irradiada con microondas: a (0 seg), b (4 seg) y c (8 seg).

La irradiación con microondas produjo daños en el gránulo de almidón que pueden ser observados en las micrografías (Figura 26), el daño consiste en ruptura de la estructura después de la etapa de remojo, estos daños son más evidentes a tratamiento de 8 seg en relación a 4 seg, sin embargo también la magnitud de las fracturas pueden ser producidas por el vacío que ejerce el quipo de microscopía, es decir, si había un daño producido por la irradiación al producirse el vacío y eliminar una porción del contenido de humedad la estructura del gránulo pudo colapsar ligeramente. La exposición a microondas a tiempos cortos da lugar a un ligero hinchamiento de los gránulos de almidón el control mostró en promedio en la longitud del grano de  $\approx 11.11 \mu\text{m}$ , con tratamiento a 4 seg  $\approx 14.45$  y a 8 seg  $\approx 13.90$ . Estos resultados concuerdan con los reportados por Rodríguez (2010) el cual observo que el gránulo de almidón tenía un mayor hinchamiento en nixtamales de maíz irradiado con microondas que aquellos nixtamales del proceso tradicional.

Por su parte la irradiación con IR produce daños menores que el calentamiento con microondas, en las micrografías que se muestran en la Figura 27, los daños son mínimos y poco visibles, observándose mejor en el tratamiento a 54 seg. En comparación con microondas en los tratamientos de IR los daños estuvieron presentes en menos gránulos de almidón. Aunque el calentamiento con IR es menos drástico que las microondas se produce mejor hinchamiento de los gránulos, el control que se empleo en este proceso tuvo una longitud del grano promedio  $\approx 10.50 \mu\text{m}$ , a irradiación de 37 seg  $12.66 \mu\text{m}$  y a 57 seg  $16.18 \mu\text{m}$ , por lo tanto adquieren mayor capacidad de absorción de agua. Fasina *et al.* (2001) reportaron mayor absorción de agua después de 24 hrs en leguminosas tratadas con microondas.



**Figura 27.** Micrografías de los gránulos de almidón después de la etapa de remojo de Esmeralda irradiada con infrarrojo: a (0 seg), b (37 seg) y c (54 seg).

## 5.5 Grado de cristalinidad del almidón medido por difracción de rayos X

El comportamiento del grado de cristalinidad del almidón fue evaluado en las cuatro variedades de cebada, para ambos tipos de radiación microondas e infrarrojo a los diferentes tiempos. A partir de los difractogramas de rayos- X se calculó el porcentaje de cristalinidad, los resultados son mostrados en el Cuadro 13. Las variedades forrajeras sin tratamiento presentaron mayor cristalinidad que las cebadas malteras. Aquellos granos de cebada que poseen un mayor contenido de endospermo vítreo son representativos de granos de cebada con mayor dureza característica de variedades forrajeras (Hornsey, 1999).

**Cuadro 13.** Efecto del tiempo de irradiación con microondas e infrarrojo sobre la cristalinidad relativa del grano de cebada<sup>†</sup>.

Variedad	Microondas		Infrarrojo	
	t. (seg)	Cristalinidad (%)	t. (seg)	Cristalinidad (%)
Esmeralda	0	7.83cd	0	6.60cd
	4	6.40efg	37	5.99cde
	8	5.09g	54	5.55cde
Esperanza	0	7.33cde	0	6.93c
	4	5.26fg	37	5.47e
	8	5.46fg	54	4.81e
Pastor Ortíz	0	12.71a	0	12.05a
	4	8.50c	37	4.82e
	8	6.20efg	54	5.47cde
Adabella	0	10.48b	0	9.81b
	4	6.64def	37	5.03e
	8	6.22efg	54	5.54cde

t = tiempo de irradiación.

<sup>†</sup>Medias seguidas con la misma letra no son significativamente diferentes ( $P \leq 0.05$ ).

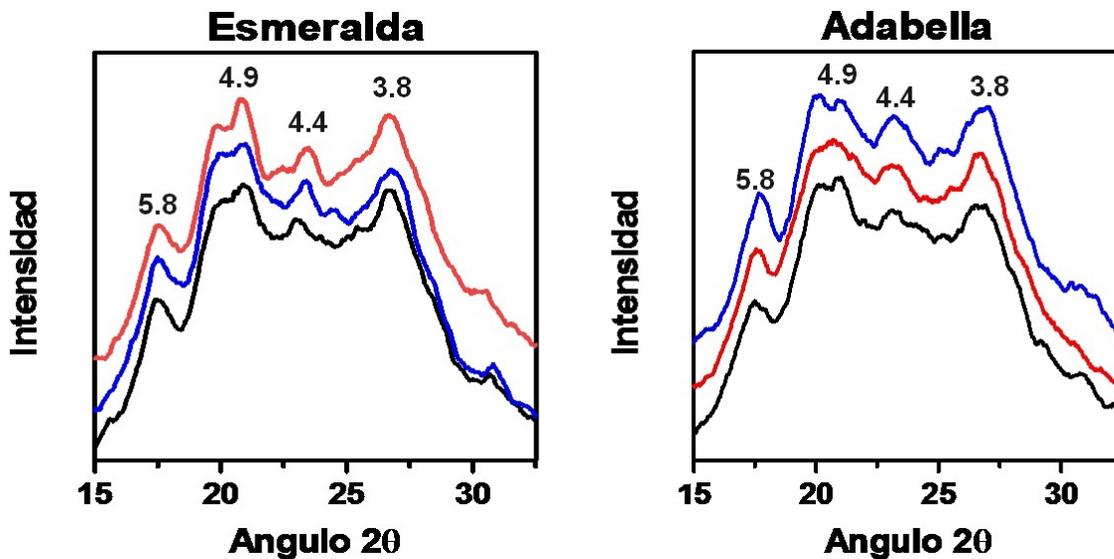
Al someter al grano de cebada a radiación con ambos tipos de ondas electromagnéticas se observó que la cristalinidad descendía dando lugar a diferencias significativas entre la cristalinidad del control y los tratamientos. Manful *et al.* (2008) obtuvieron que el calentamiento de granos de arroz produjo una

disminución de la cristalinidad. También se ha demostrado que el calentamiento con microondas decrece el grado de cristalinidad de trigo y maíz (Rodríguez, 2010; Lewandowicz *et al.*, 2000).

Los difractogramas mostrados en las Figura 28 y 29, son representativos de las tendencias observadas después del calentamiento con microondas e IR, respectivamente. En todas las muestras se observan picos mayoritarios a un espaciamiento planar de 5.8, 4.9, 4.4 y 3.8 Angstroms (Å) similar a los hallados en cebada por Tang *et al.* (2000), dando lugar a un almidón tipo A. Zobel (1988) reportó un espaciamiento planar de 5.8, 5.2, 4.5 y 3.8 Å que son característicos de un almidón tipo A común en los almidones de cereales.

En la Figura 28 se presentan los difractogramas de rayos-X obtenidos después del tratamiento con microondas. Las variedades Esmeralda, Esperanza y Pastor Ortíz mostraron el mismo comportamiento por ello únicamente se muestra el difractograma de la variedad Esmeralda. En estas tres variedades el calentamiento con microondas produjo un aumento de la intensidad de los picos en ambos tratamientos principalmente a 4 seg, donde el pico localizado a 4.9 Å es mayor en intensidad con respecto al control, al igual que el pico a 4.4 y 3.8 Å. También se observa la aparición de un pico a 5.2 Å y otro muy atenuado a 4.6 Å lo cual puede ser un indicativo de un cambio en la forma cristalina del almidón. Al prolongar el calentamiento a 8 seg se obtuvo un difractograma similar al control con una mayor intensidad de los picos que este, pero volviéndose a restaurar la forma cristalina del almidón, también desapareció el pico formado a 4 seg a un espaciamiento planar de 5.2 Å, pero se produjo un nuevo pico a 4.2 Å. En la variedad Adabella se obtuvo un difractograma con diferente comportamiento al resto de las variedades. El tratamiento a 8 seg es el que mostró mayor intensidad en los picos que el control, lo que da lugar que a mayor exposición a microondas mayor efecto sobre la cristalinidad del grano de cebada. Los picos presentes en el difractograma del control a 5.1 Å y 4.9 Å se unen para formar un solo pico a tratamiento de 4 seg, este pico vuelve a formar los picos originales con 8 seg de irradiación. El difractograma del tratamiento a 8 seg es similar al obtenido en el

control pero con mayor intensidad en todos los picos. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Rodríguez (2010).

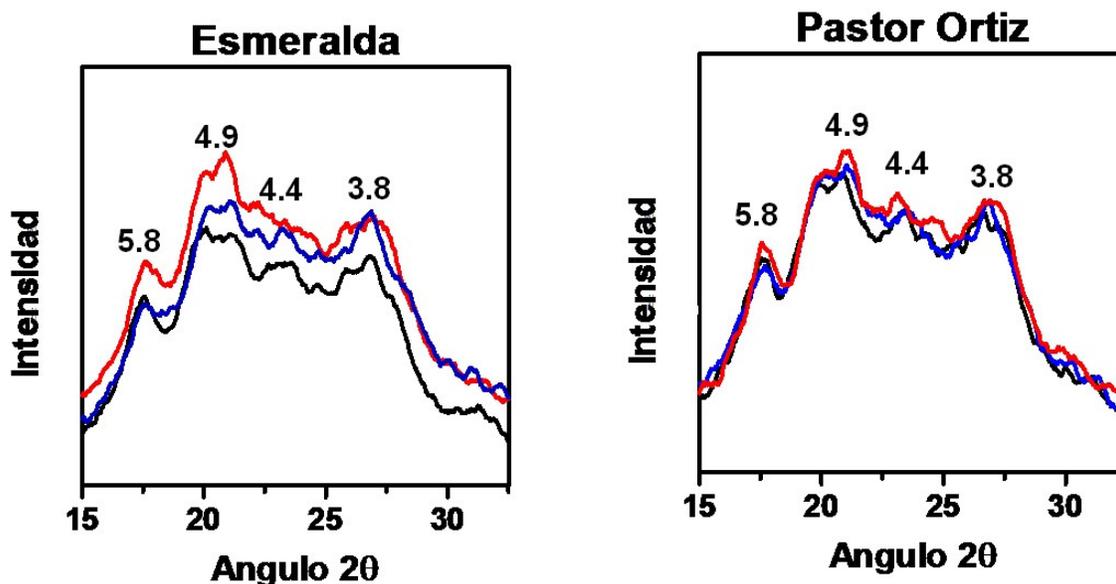


**Figura 28.** Difractogramas de rayos-X de granos de cebada irradiados con microondas. El difractograma negro corresponde al control, rojo a 4 seg y azul a 8 seg.

Además Zobel (1988) sugiere que el pico a 4.4 Å es representativo del complejo amilosa-lípido donde se observaron cambios en los difractogramas. También el pico a 4.9 Å como ya se menciono anteriormente existen cambios visibles y este pico esta dado por la amilopectina (Rojas – Molina *et al.*, 2007). Por lo tanto la exposición a microondas produce cambios tanto en amilosa como en amilopectina del gránulo de almidón. En la variedad Esmeralda a 4 seg los cambios se dan en ambos constituyentes del almidón, pero a 8 seg es visible el cambio en la amilosa y no tanto en amilopectina. En la variedad Adabella por su parte, la modificación en el almidón es tanto en amilosa como en amilopectina en ambos tratamientos, siendo mayor a 8 seg.

En el calentamiento con IR se obtuvieron comportamientos similares entre las variedades en los difractogramas obtenidos de rayos X, a excepción de la variedad Pastor Ortíz (Figura 29). De igual forma solo se presentan los difractogramas de la variedad Esmeralda y Pastor Ortíz. El difractograma del

control de Esmeralda no muestra definido el pico de 4.9 Å. La exposición a IR da lugar a un incremento en la intensidad de los picos a 37 y 54 seg, siendo mayor a 37 seg en relación al control. Con calentamiento a 37 seg el pico a 4.9 Å aumenta significativamente su intensidad y desaparece por completo el pico a 4.4 Å formándose una serie de picos de menor intensidad, lo que representa modificaciones en las cadenas de amilopectina y amilosa, siendo mayor en amilosa al desaparecer el pico 4.4 Å.



**Figura 29.** Difractogramas de granos de cebada irradiados con infrarrojo. El difractograma negro corresponde al control, rojo a 37 seg y azul a 54 seg.

De la misma forma el pico a 3.8 Å desaparece, sin embargo aparece un pico a 4.6 Å no bien marcado. Este último pico es más visible en el tratamiento a 54 seg el cual no se encuentra en el control. A 54 seg la estructura cristalina regresa casi a la estructura inicial. El comportamiento anterior es para las variedades Esmeralda, Esperanza y Adabella. En el caso particular de la variedad Pastor Ortíz presentó una tendencia similar a las otras variedades pero no se muestra una variación de la intensidad de los picos tan marcada. En esta variedad el difractograma del tratamiento a 37 seg fueron más evidentes los cambios en la intensidad de los picos, pero conserva la estructura del control. Únicamente a 37 seg el pico de la amilopectina (4.9 Å) se incrementa ligeramente la intensidad,

sugiriendo cambios mínimos en el almidón y menos marcados que con tratamientos de microondas. Por lo tanto se puede especular que la irradiación tiene un efecto significativo sobre la estructura de la amilosa y la amilopectina, quizás sea mayor el efecto sobre la amilosa ya que se observó el cambio en todos los tratamientos, este hecho da lugar a una disminución en la cristalinidad del almidón, debido a que Manful *et al.* (2008) sugieren que la amilosa es el mayor componente cristalino. Por su parte Lewandowicz *et al.* (2000) coinciden en que la amilosa tiene efecto sobre la cristalinidad del almidón y que es susceptible al tratamiento con microondas.

## 5.6 Perfiles de viscosidad

Se evaluaron los perfiles de viscosidad (RVA) para observar los efectos que ha tenido la irradiación sobre el almidón. De las variedades expuestas a la radiación de microondas solo se realizaron los perfiles de viscosidad en suspensiones acuosas de Esmeralda y Adabella de acuerdo a los resultados obtenidos en los análisis anteriores. Así como para la irradiación con IR se obtuvieron únicamente los perfiles de viscosidad de Esmeralda y Pastor Ortíz. En el Cuadro 14 se muestran los cambios en la viscosidad por efecto de las microondas.

**Cuadro 14.** Cambios en la viscosidad por efecto del tiempo de irradiación con microondas sobre dos cultivos de cebada<sup>†</sup>.

Variedad	t. (seg)	Viscosidad maxima (cP)	Viscosidad Final (cP)
Esmeralda	0	1864a	1641a
	4	1401b	1377b
	8	1547b	1447ab
Adabella	0	241c	167c
	4	204c	137c
	8	193c	140c

t = tiempo de irradiación.

<sup>†</sup> Medias seguidas con la misma letra no son significativamente diferentes (P≤0.05).

La variedad Esmeralda tuvo una viscosidad máxima mayor que la variedad forrajera Adabella. La viscosidad máxima en la variedad Esmeralda fue menor al ser expuesta la cebada a microondas, obteniendo una disminución de la viscosidad máxima a 4 seg y se aumenta ligeramente a tratamiento de 8 seg pero sin haber diferencias significativas entre tratamientos. Este efecto también se observó en la viscosidad final de esta variedad.

En contra parte en la variedad Adabella no existió una disminución significativa de la viscosidad máxima ni de la viscosidad final, sin embargo los resultados obtenidos por rayos X mostraron que si existió daño en el almidón pero este no fue suficiente para producir una mayor modificación en los perfiles de viscosidad. Sin embargo Hernández (2011) al emplear microondas en trigo también obtuvo efectos similares sobre los perfiles de viscosidad que los conseguidos con la variedad Esmeralda.

El calentamiento con infrarrojo tuvo un efecto similar que el obtenido con microondas sobre los perfiles de viscosidad. La viscosidad máxima de la variedad Pastor Ortíz fue menor que la obtenida para Esmeralda (Cuadro 15). Al aplicar radiación de IR la viscosidad máxima decreció siendo menor a tratamiento de 54 seg.

**Cuadro 15.** Cambios en la viscosidad por efecto del tiempo de irradiación con infrarrojo sobre dos cultivos de cebada<sup>†</sup>.

Variedad	t. (seg)	Viscosidad máxima (cP)	Viscosidad Final (cP)
Esmeralda	0	1864a	1641a
	37	1454b	1466ab
	54	1360c	1338b
Pastor Ortíz	0	1098d	1110c
	37	938e	956c
	54	989e	1001c

t = tiempo de irradiación.

<sup>†</sup> Medias seguidas con la misma letra no son significativamente diferentes (P≤0.05).

La variedad Pastor Ortíz tuvo la misma tendencia ha 37 seg, posteriormente se aumenta ligeramente la viscosidad máxima pero no existen diferencias significativas entre tratamientos. En el valor de la viscosidad final para la variedad Esmeralda siguió la misma tendencia que la viscosidad máxima por el calentamiento con IR, sin embargo en Pastor Ortíz no se obtuvo un efecto significativo de la radiación sobre la viscosidad final.

La radiación de microondas e infrarrojo afectaron los perfiles de viscosidad del grano de cebada, esto puede ser como consecuencia del daño que sufrió la estructura superficial del gránulo de almidón como se observó en las micrografías. Además de que se producía un mayor hinchamiento del gránulo, lo cual da lugar al que el daño producido permita mayor absorción de agua pero también debido a las fracturas que se observaban el grano colapsa más rápidamente cuando se somete a temperatura, dando como consecuencia una menor viscosidad.

## **5.7 Electroforesis de prolaminas del grano de cebada**

La fracción de las prolaminas de la cebada Esmeralda fue extraída después de la exposición a la irradiación, por medio de varios lavados con diferentes soluciones de acuerdo a la solubilidad de las proteínas. De la muestra liofilizada se calculó la cantidad de prolaminas. Esta fracción recibe el nombre de hordeínas. La fracción de hordeínas fue seleccionada para su estudio porque es la fracción que se encuentra en mayor porcentaje en el grano de cebada (35-45%) y es la proteína que se encuentra formando la matriz proteica que envuelve a los gránulos de almidón, la degradación de la hordeína durante el malteo es necesaria para que las enzimas tengan acceso al almidón, facilitando su hidrólisis (Howard *et al.*, 1996). Los análisis de electroforesis fueron realizados en los laboratorios del departamento de ciencia de los alimentos de North Dakota State University, Estados Unidos.

En el Cuadro 16 se muestra el contenido de proteína presente en cada fracción de hordeína obtenida, denominadas como hordeína I y hordeína II, por la

solución de alcohol empleada (2-propanol 55% y 2-propanol 55% +  $\beta$ -mercaptoetanol 0.6 %, respectivamente).

**Cuadro 16.** Contenido de hordeína del cultivar Esmeralda después del proceso de extracción.

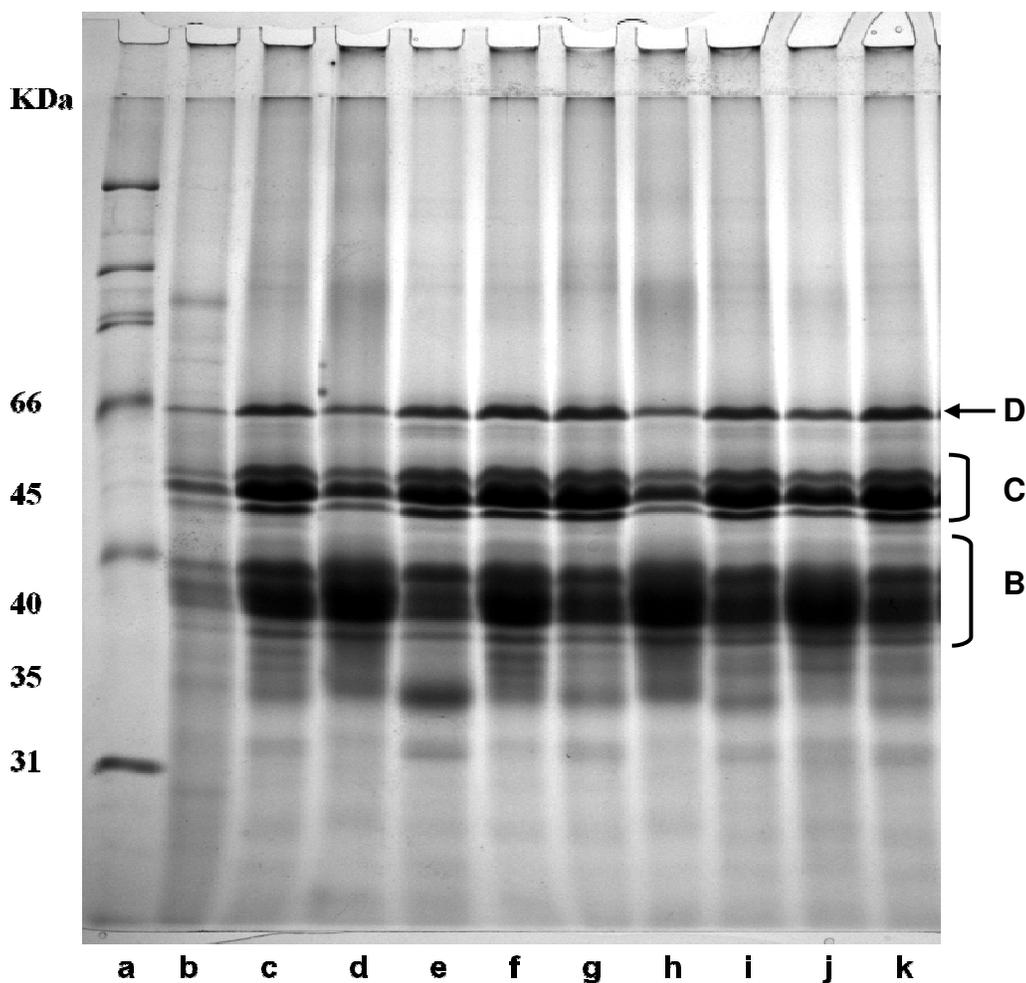
t. (seg)	Hordeína I	Hordeína II
Control	57.45	48.01
4 seg <sup>m</sup>	34.29	76.97
8 seg <sup>m</sup>	51.97	45.54
37 seg <sup>ir</sup>	56.22	40.07
54 seg <sup>ir</sup>	55.97	-

t = tiempo de irradiación  
m = tratamiento con microondas  
ir = tratamiento con infrarrojo

En los tratamientos realizados con microondas la cantidad de la fracción de hordeína I obtenida difiere entre ellos, siendo menor el tratamiento de 4 seg. Sin embargo en la fracción de hordeína II a 4 seg es donde se extrajo mayor cantidad de proteína. Esta disminución e incremento en la cantidad de hordeína extraída puede ser como consecuencia de un cambio en la solubilidad de la proteína por efecto de la radiación. Por otra parte, el incremento en la fracción de hordeína II a 4 seg se deba al uso de  $\beta$ -mercaptoetanol, el cual ocasionó la apertura de enlaces sulfuro haciendo más disponible la proteína y aunado al tratamiento con microondas se logro una mayor extracción de la proteína a diferencia de la fracción de hordeína I, donde solo se uso una solución con 2-propanol sin ningún agente desnaturizante. El calentamiento de infrarrojo como se ha mostrado es menos potente y drástico que microondas, esto se ve reflejado en la cantidad de hordeína I y hordeína II que se obtuvo de la extracción que es similar entre el control y los tratamientos. En la fracción de hordeína II para tratamiento de 54 seg de infrarrojo hubo problemas durante la liofilización por lo cual esta fracción fue eliminada para su análisis.

La fracción de hordeína obtenida de los granos irradiados con microondas e infrarrojo fueron sometidos a electroforesis SDS-PAGE (Figura 30) para

determinar cambios producidos en la proteína por efecto de la irradiación. En el gel de electroforesis fueron colocados ambas fracciones obtenidas de hordeína.



**Figura 30.** Electroforesis SDS de las fracciones de hordeína de granos de la variedad Esmeralda. Harina de cebada (carril a), Fracción de Hordeína control I (carril b), control II (carril c), tratamientos con microondas: 4 seg I (carril d), 4 seg II (carril e), 8 seg I (carril f), 8 seg II (carril g) y tratamiento con infrarrojo: 37 seg I (carril h), 37 seg II (carril i), 54 seg I (carril j). \* I y II son las fracciones dependiendo de la solución usada (2-propanol 55% y 2-propanol 55% +  $\beta$ -mercaptoetanol 0.6% respectivamente).

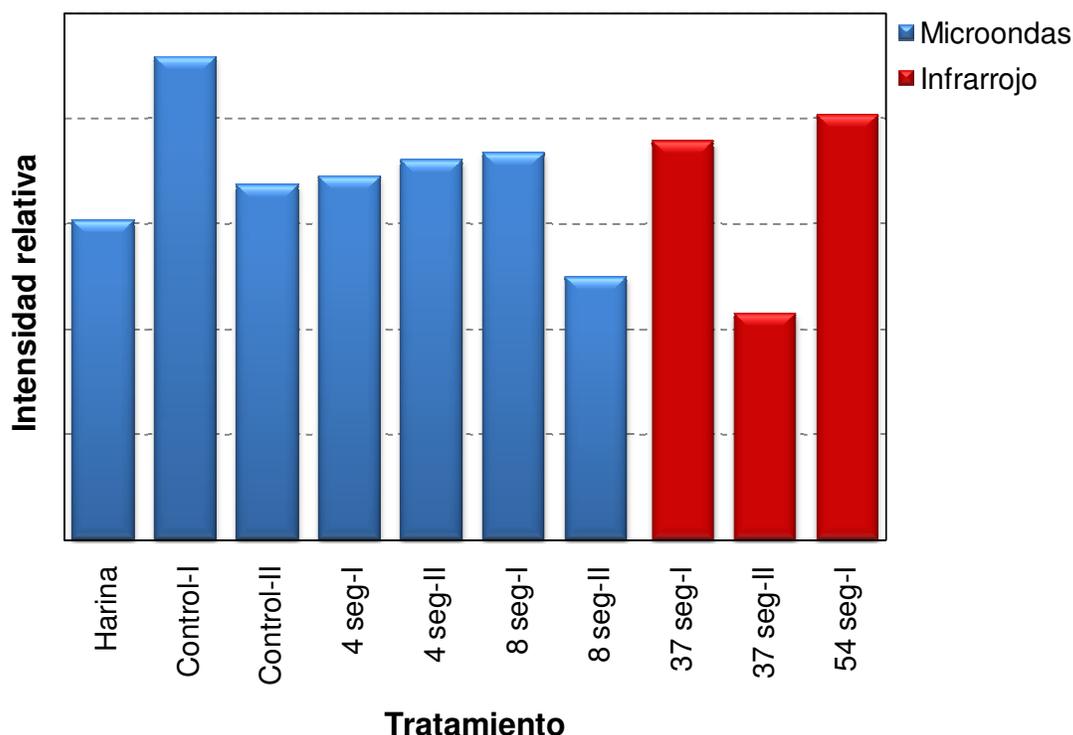
En general se pueden observar 3 zonas de bandas con diferente peso molecular las cuales han sido denominadas como hordeína D, C y B por diversos autores (Brennan, *et al.*, 1998; Lookhart, *et al.*, 1999; Fox, *et al.*, 2002). La hordeína D es la de mayor peso molecular, esta se ubica alrededor de pesos

moleculares de 66 KDa, en este trabajo se localiza a 66 KDa. La hordeína C se localizó entre 43-55 KDa y la hordeína B entre 37-42 KDa estas fueron los componentes mayoritarios, según Howard *et al.* (1996) y Qi *et al.* (2006) corresponde al 70-80% y 10-20% respectivamente del total de hordeína. La hordeína C y B en el gel de electroforesis de la fracción de hordeína I y II concuerdan con los perfiles reportados. En el gel de SDS-PAGE se observó que no existieron cambios evidentes en el peso molecular por efecto de los tratamientos, no hay desplazamiento de las bandas tanto en el control como en los tratamientos, mostrando un peso molecular similar entre ellos sin perder la conformación de las fracciones de D, C y B.

No obstante es evidente el contraste de la intensidad de las bandas entre la fracción de hordeína I y II, debido a la diferencia en la composición de la solución empleada durante el proceso de extracción de la proteína del grano de cebada (Figura 30). La intensidad de las bandas de hordeína D y C, es mayor en la fracción de hordeína I que en la fracción de hordeína II. La intensidad de la hordeína B es menor en la fracción de hordeína I. Este efecto se observa en el control y en los tratamientos con microondas e infrarrojo. Sin embargo en el gel de electroforesis se observa un efecto inverso a tratamiento de 4 seg con microondas en la fracción de hordeína II.

Para un mejor análisis del efecto de la irradiación de microondas e infrarrojo sobre la proteína se determinó la intensidad relativa de cada una de las hordeínas (D, C y B). Con respecto a la hordeína D, en la fracción de hordeína I se observó una disminución de la intensidad de la banda para ambos tratamientos de irradiación, siendo ligeramente mayor la intensidad en tratamientos con infrarrojo que los de microondas (Figura 31).

## Hordeína D

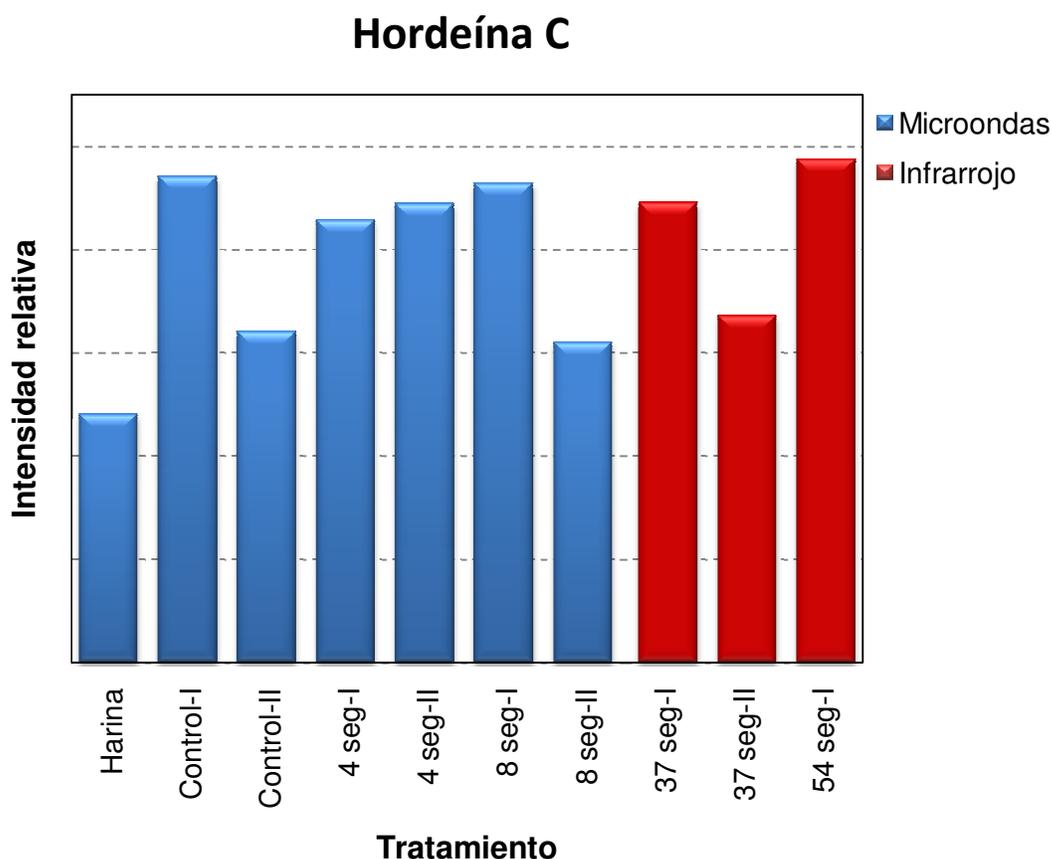


**Figura 31.** Efecto de la irradiación con microondas e infrarrojo sobre la fracción de hordeína D. Harina (harina del grano de cebada), I (hordeína I) y II (hordeína II).

En la fracción de hordeína II, la intensidad de la banda representativa de hordeína D disminuye en el control, comparando con el control de la fracción de hordeína I (Figura 31). También se observó un incremento de la intensidad a 4 seg de irradiación con microondas en relación al control de esta fracción (hordeína II), dando lugar a una mayor extracción de la proteína por efecto de la irradiación y no debido al uso de  $\beta$ -mercaptoetanol en la solución de extracción, porque en control-II no se observó este efecto. Para tratamiento de 8 seg con microondas y 37 seg con infrarrojo la intensidad de la hordeína D disminuyó. Howard *et al.* (1996) encontraron que la hordeína D tenía una correlación negativa ( $r = -0.76$ ) con la calidad maltera, además de que esta proteína es muy independiente de las condiciones de cultivo de la cebada. En relación a lo anterior la fracción de hordeína I, en los diferentes tratamientos, es la que presenta resultados similares

a estos autores porque el extracto de malta (Figura 19 y 20) es mayor en aquellos tratamientos donde se observo menor intensidad de la hordeína D.

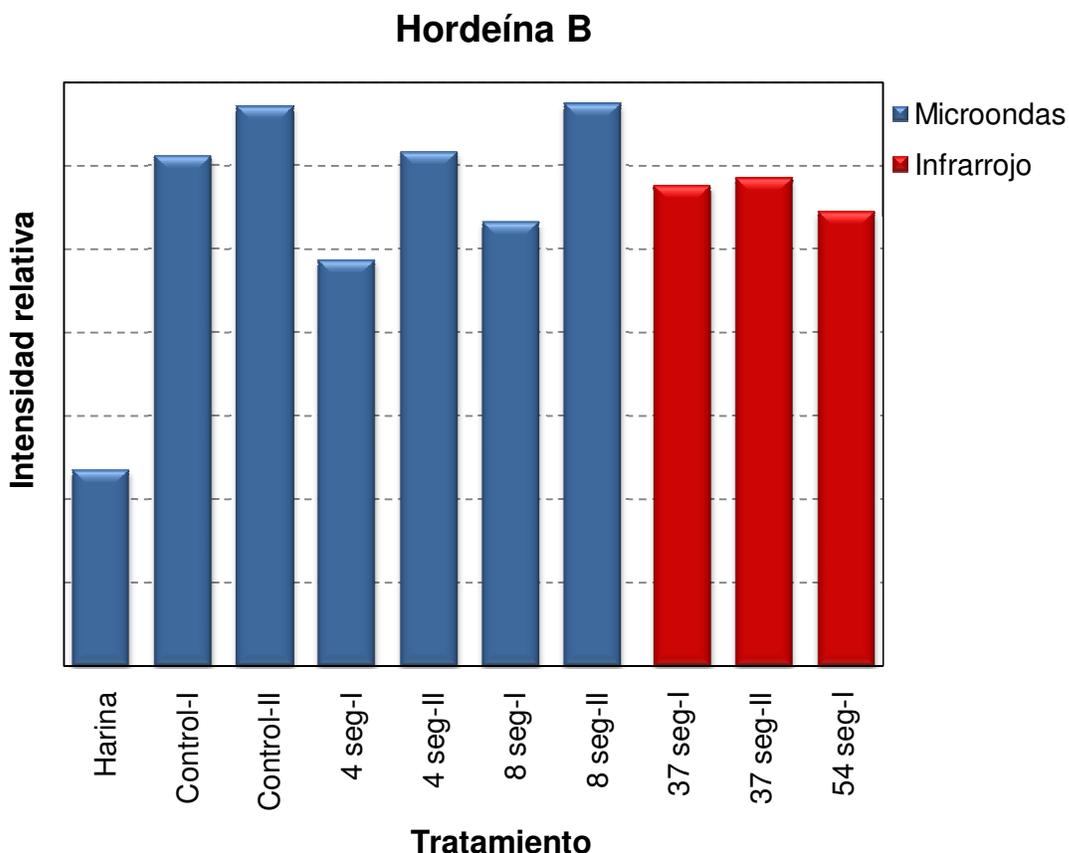
En la hordeína C (Figura 32), el efecto de la irradiación de microondas e infrarrojo es similar al observado en la hordeína D. En la fracción de hordeína I se obtuvo una disminución de la hordeína C después del tratamiento con irradiación, dando una menor intensidad de las bandas a tratamiento de 4 seg con microondas y esta se incremento ligeramente a 8 seg. En el tratamiento con infrarrojo también se tiene una disminución de la intensidad de la hordeína C en comparación con el control, pero a tratamiento de 54 seg se incremento siendo similar al control.



**Figura 32.** Efecto de la irradiación con microondas e infrarrojo sobre la fracción de hordeína C. Harina (harina del grano de cebada), I (hordeína I) y II (hordeína II).

Por otra parte en la fracción de hordeína II se observó una disminución de las bandas entre los controles, también se tuvo un incremento en la intensidad al someterse a irradiación de microondas a 4 seg. En contraste a tratamiento de 8 seg con microondas y 37 seg con infrarrojo la intensidad de las bandas de hordeína C disminuyó siendo parecida al control de la misma fracción de hordeína (II). De acuerdo a Tatham y Shewry (1995) la hordeína C limita la hidratación, así como la hidrólisis del almidón y proteínas durante la etapa de remojo y malteo, por lo tanto interfiere en la calidad maltera de la cebada. Al igual que con la hordeína D, los efectos de la irradiación sobre la fracción de hordeína I son los que se relacionan con los obtenidos en trabajos anteriores, es decir, donde se tiene menor intensidad de las bandas es donde se obtuvo mayor calidad maltera con respecto al extracto de malta, porque se logró una mejor hidrólisis del almidón y de proteínas.

Por último en la hordeína B (Figura 33), que es la que tiene mayor número de bandas pero de menor peso molecular, se obtuvo un efecto diferente de la irradiación sobre este tipo de proteínas al obtenido en la hordeína D y C. En el control se tuvo un incremento de intensidad de las bandas en la fracción de hordeína II, donde se utilizó el  $\beta$ -mercaptoetanol y esto es un comportamiento que se observó también en tratamiento de microondas, pero no con tratamiento de infrarrojo. Lo anterior indica que posiblemente en este tipo de proteína la presencia de  $\beta$ -mercaptoetanol facilitó la extracción de la proteína, sin embargo con la irradiación de infrarrojo este efecto no se observó. En ambas fracciones de hordeína (I y II) se obtuvo que al realizarse el tratamiento de microondas a 4 seg la intensidad disminuyó con respecto al control y se incrementa nuevamente a 8 seg de irradiación. Mifflin *et al.* (1983) observaron que la hordeína B tiene agregados que son ricos en enlaces disulfuro, lo cual podría explicar porque en este tipo de hordeína el  $\beta$ -mercaptoetanol tiene un efecto en la extracción de la proteína. Además de que estos mismos autores sugieren que la hordeína B también tiene efecto directo sobre el extracto de malta, teniendo una correlación negativa entre ambos factores. Lo anterior concuerda con lo obtenido en este estudio.



**Figura 33.** Efecto de la irradiación con microondas e infrarrojo sobre la fracción de hordeína B. Harina (harina del grano de cebada), I (hordeína I) y II (hordeína II).

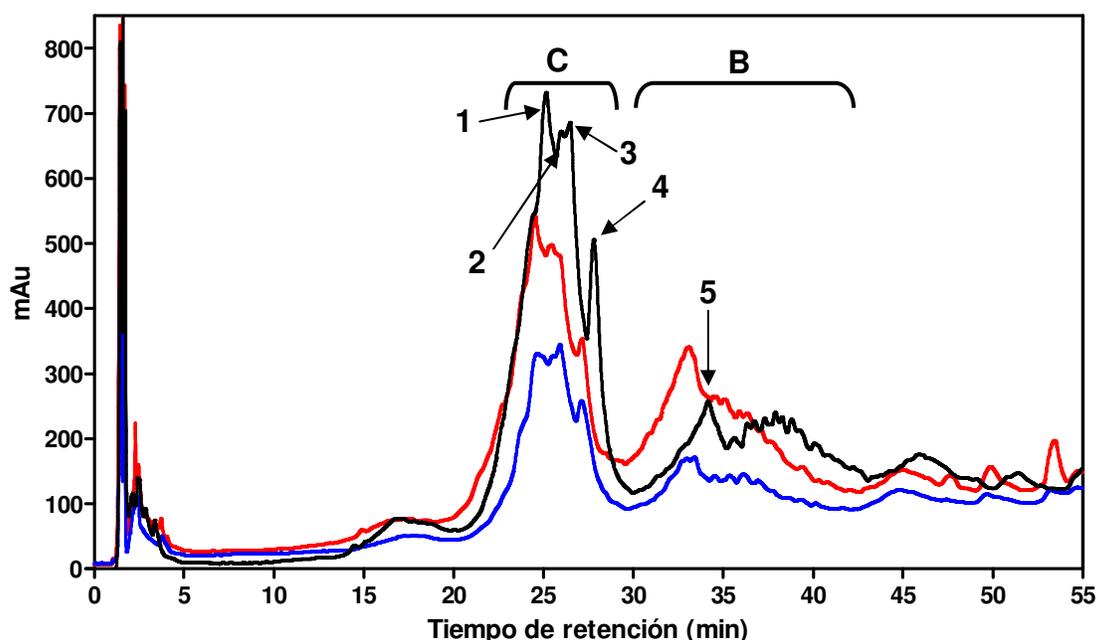
La intensidad de las bandas en la harina de cebada tiende a ser menor en cada uno de los tipos de hordeína porque no se encuentran separadas las proteínas y están inmersas las globulinas, glutelinas, prolaminas y albúminas. Se observó con electroforesis SDS que la radiación con microondas e infrarrojo tiene efecto significativo sobre la hordeína, produciendo cambios en los tipos de hordeína presentes D, C y B. Los cambios en la intensidad de las bandas no representan en definitiva cambios en el peso molecular de la hordeína, sin embargo si se puede deber a un cambio en la solubilidad de la proteína por efecto de la irradiación. Warchalewski y Gralik (2010) reportaron que el calentamiento con microondas a tiempos mayores de 45 seg produjo cambios en el peso molecular de las albuminas del trigo por la desnaturalización que sufren, sin embargo a tiempos menores no se modifica el peso molecular, lo cual sucede con

las hordeínas de las cebadas estudiadas, en las cuales no se presenta una desnaturalización.

Partridge *et al.* (2003) sugieren que cambios en la intensidad de las bandas del gel de electroforesis en prolaminas representan cambios en la hidrofobicidad o de la formación de enlaces covalentes entre polipéptidos o polipéptidos-almidón diferentes a los enlaces disulfuro, esto después de un proceso de calentamiento. Sin embargo estos autores indican que hay rompimiento de enlaces disulfuro pero a temperaturas mayores a 145°C. Los resultados obtenidos en el presente trabajo para electroforesis apuntan a que cambios observados se deban a posibles cambios en la hidrofobicidad de la proteína y a rompimientos en enlaces de hidrógenos o enlace oxígeno-hidrógeno, por acción del calentamiento con microondas e infrarrojo. No se puede especular de rompimiento de enlaces disulfuro porque las temperaturas empleadas son bajas y la energía no es suficiente para romper un enlace covalente (335 KJ/mol), sin embargo enlaces de hidrógeno son débiles (2-40 KJ/mol), así como el enlace oxígeno-hidrógeno (13-25 KJ/mol) (Fennema, 2000), estos enlaces si pueden ser afectados por los tratamientos con microondas e infrarrojo, dando lugar a una modificación de la estructura de la proteína.

## **5.8 Cromatografía líquida de alta resolución de hordeínas**

La fracción de hordeína obtenida fue analizada por HPLC para encontrar posibles cambios en el peso molecular de la misma o cambios en la solubilidad. La fracción de Hordeína I fue la única analizada. En los cromatogramas obtenidos se pueden identificar 5 picos mayoritarios, después del último pico se observaron una serie de picos no definidos (Figura 34 y 35). Los picos 1, 2, 3 y 4 son característicos de la hordeína C y el pico 5 de la hordeína B, resultados similares han sido hallados por Allison y Bain (1986) y Wingad *et al.* (1986).

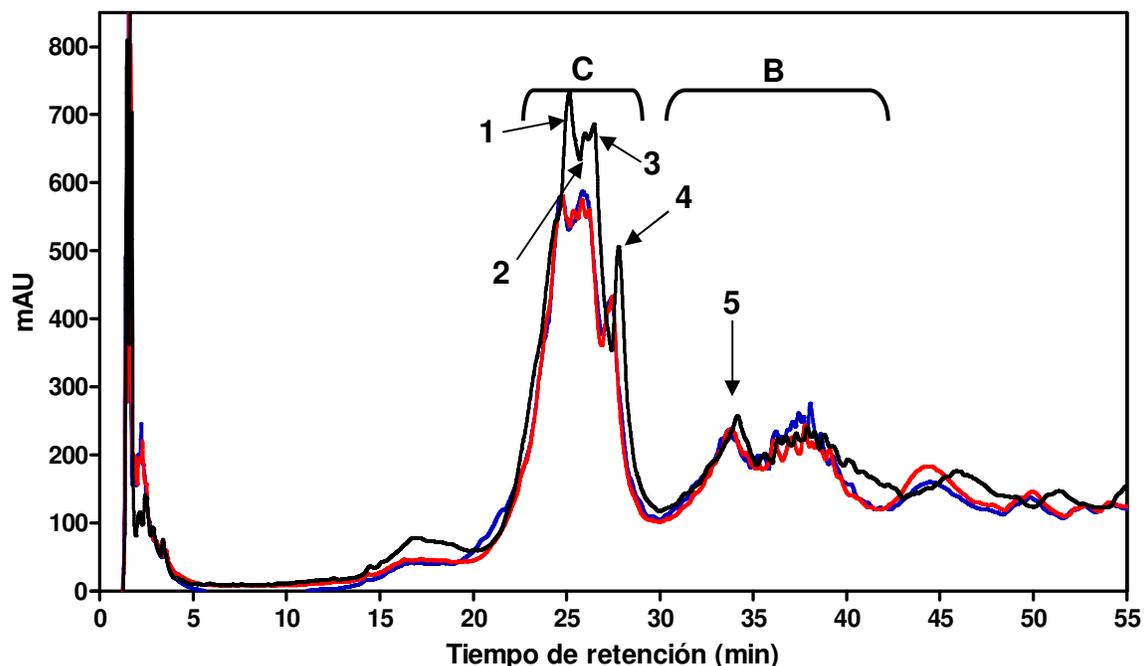


**Figura 34.** Cromatograma de la fracción de hordeína I de la variedad Esmeralda, para tratamientos con microondas. Cromatograma negro (control), rojo (4 seg) y azul (8 seg).

En la Figura 34 se observa un descenso en la absorbancia de los picos en ambos tratamientos con microondas, siendo más marcado a 8 seg. La modificación en la proteína por la radiación se observó en ambas fracciones de hordeína C y B. En la hordeína C a 4 seg el pico 2 está más definido que el control, pero el pico 3 desapareció. A tratamiento de 8 seg el cromatograma fue similar al del control pero con menor absorbancia. En la hordeína B el pico 5 es el que cambia en ambos tratamientos, teniendo mayor absorbancia a 4 seg y disminuyó a 8 seg. La serie de picos después del pico 5 también se ven modificados estando más atenuados a 8 seg.

El efecto de la exposición a infrarrojo también fue observado por RP-HPLC como se muestra en la figura 35. Se observó una tendencia similar que el tratamiento con microondas en los cromatogramas, a 37 y 54 seg la absorbancia de los picos descendió. En la hordeína C a 37 seg solo se tuvo disminución de la intensidad de los picos pero conserva la forma del control, sin embargo a 54 seg el pico 2 desaparece, teniendo los tratamientos absorbancias similares. En la

hordeína B los cambios en el pico 5 fueron menos marcados que con microondas, pero si hay disminución mínima de absorbancia del pico, los picos posteriores a este también presentaron cambios.



**Figura 35.** Cromatograma de la fracción de hordeína I de la variedad Esmeralda, para tratamientos con infrarrojo. Cromatograma negro (control), rojo (37 seg) y azul (54 seg).

Los cromatogramas solo muestran cambios en la absorbancia de los picos presentes la cual es evidente en microondas e infrarrojo, esto solo puede estar dado por cambios en la hidrofobicidad de la proteína como se había mencionado en resultados anteriores, porque el principio de la RP-HPLC está en base a la hidrofobicidad de las moléculas, sin embargo este efecto es mínimo porque los tiempos de retención no fueron muy diferentes (Cuadro 17), confirmando lo obtenido por electroforesis, los cromatogramas también revelan que no existieron cambios de peso molecular al no haber modificaciones marcadas en los tiempos de retención.

**Cuadro 17.** Tiempos de retención de la fracción de hordeína I.

Pico	Control	4 seg	8 seg	37 seg	54 seg
1	25.1	23.9	24.6	24.7	24.6
2	25.9	25.4	25.5	24.9	-
3	26.3	-	25.8	25.8	25.8
4	27.6	27.1	27.1	23.7	27.3
5	34.1	32.1	32.90	33.8	33.7

Sin embargo existe un comportamiento inverso entre lo la intensidad de las bandas del gel de electroforesis y la absorbancia de los cromatogramas, en ambas técnicas se observa una disminución en los tratamientos con respecto al control, pero entre los tratamiento existe una diferencia marcada; siendo mas evidente con irradiación de microondas. En el tratamiento de 4 seg la intensidad de las bandas del gel de lectroforesis es menor que a 8 seg de exposición de microondas, pero en el cromatograma la absorbancia es mayor a 4 seg. Se puede inferir que los cambios producidos por efecto de la radiación fueron de tipo estructural en la hordeína sin llegar a un desorden de la misma, dando lugar a cambios en solubilidad de la proteína. Además la disminución en la absorbancia de los picos también sugiere un cambio en la estructura de las proteínas que hace que el grupo cromóforo (enlace peptídico) no se encuentre disponible de la misma forma que el control, la orientación relativa de los cromóforos y las interacciones entre ellos, afecta la energía e intensidad de la absorción, siendo detectado con diferente absorbancia por el lector de UV a 214 nm. Por lo tanto a 4 seg de irradiación de microondas la proteína tuvo menor solubilidad que representa menor extracción de hordeína C y B, sin embargo el grupo cromóforo estaba más disponible que a tratamiento de 8 seg obteniendo una mayor absorbancia.

### **5.9 Efecto de la irradiación sobre la fibra dietaria**

El almidón fue afectado por la radiación siendo este un polisacárido se esperaría que también se afectaran otros polisacáridos entre ellos la fibra. El

contenido de fibra insoluble, soluble y dietética total fueron determinados para el tratamiento de microondas (Cuadro 18), esta determinación no se realizó para el tratamiento con infrarrojo por falta de muestras porque fue de los últimos análisis realizados y solo fue posible para microondas.

Zia-Ur y Shah (2005) encontraron que los procesos de cocimiento tuvieron un efecto sobre la celulosa y hemicelulosa de diferentes leguminosas. El calentamiento del grano de cebada con microondas tuvo un efecto sobre la fibra. La fibra insoluble fue afectada después de 4 seg de irradiación con microondas, con un contenido más bajo que el control; sin embargo, aumentando el tiempo de irradiación incremento también la fibra insoluble para Esmeralda y Pastor Ortíz. La fibra soluble mostró un comportamiento opuesto.

**Cuadro 18.** Efecto de la radiación de microondas sobre la fibra dietética del grano de cebada <sup>†</sup>.

Variedad	t. (seg)	F. I. (%)	F. S. (%)	FDT (%)
Esmeralda	0	24.26 c	8.57 b	32.83 b
	4	22.45 d	8.98 b	31.43 bc
	8	27.45 a	9.82 a	37.28 a
Esperanza	0	26.43ab	4.64cd	31.07bc
	4	25.50bc	4.85c	20.97c
	8	22.12d	5.16c	30.66d
Pastor Ortiz	0	20.77 ef	2.32 e	23.09 e
	4	19.73 f	3.87 d	23.60 e
	8	21.47 de	4.45 cd	25.92 d
Adabella	0	22.25 ab	7.89 cd	30.14 bc
	4	20.69 bc	8.66 c	29.35 c
	8	19.61 d	5.53 c	25.14 d

t = tiempo de irradiación, F. I. = Fibra insoluble, F. S. = Fibra soluble, FDT = Fibra dietética total

<sup>†</sup> Medias seguidas con la misma letra en cada columna no son significativamente diferentes (P≤0.05).

La fibra soluble aumentó en dos variedades con tiempos prolongados de calentamiento a 8 seg. Por su parte la fibra dietética total (TDF) presentó la misma tendencia que la fibra insoluble. La FDT aumento con temperaturas altas logradas

con tiempos mayores de irradiación. Estos cambios en el contenido de fibra pueden ser por efecto de las microondas sobre las cadenas de los polisacáridos que forman parte de la fibra dietética total del grano de cebada.

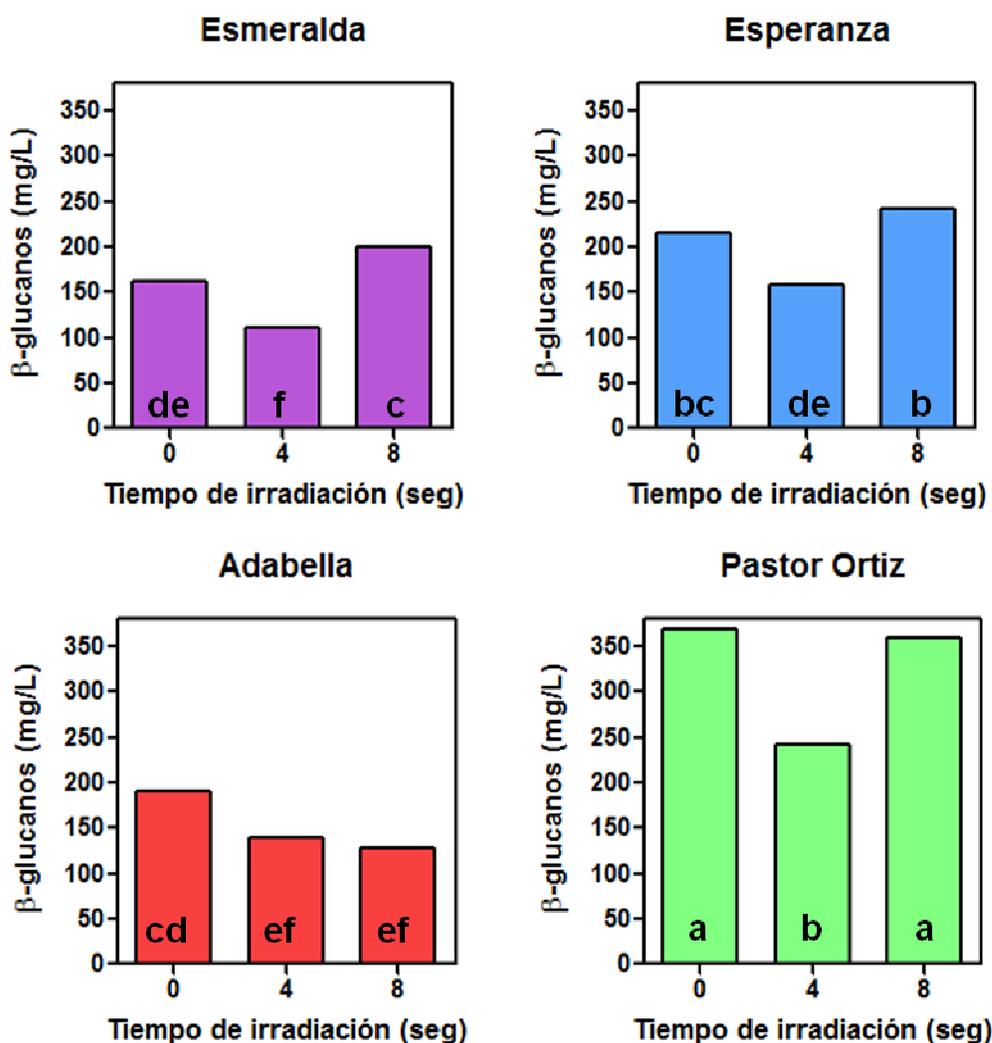
Un comportamiento similar fue reportado por Svanberg *et al.* (1997) y por Marconi *et al.* (2000) en frijol después del tratamiento con microondas. Autores indican que los cambios en la FDT por efecto del microondas son posibles a una despolimerización de la fibra y de una solubilización parcial, también se pueden generar rupturas en los enlaces débiles de los polisacáridos de la pared celular o entre polisacáridos-proteína.

### **5.10 Efecto de la radiación sobre $\beta$ -glucanos**

Los  $\beta$ -glucanos son los componentes mayoritarios de la pared celular del grano de cebada (Wood, 1993). Normalmente ha habido problemas con el uso de la cebada para la alimentación animal debido al efecto negativo que los  $\beta$ -glucanos, junto con otros polisacáridos no amiláceos tienen sobre la absorción y aumento de peso corporal. Además, los niveles de  $\beta$ -glucanos han sido considerados como una característica más influyente en relación con el potencial cervecero y el rendimiento de la cebada, que regulan la tasa de modificación del endospermo y también influyen en la viscosidad del mosto (Edney y Mather, 2004). Aunque es relativamente pequeña la contribución de los  $\beta$ -glucanos al peso total del grano (2-6 % peso seco), está claro que los  $\beta$ -glucanos tienen un gran impacto sobre la utilización tecnológica de la cebada y sobre el valor nutricional del grano (Zhang *et al.*, 2002). Es por ello la importancia de determinar el efecto de la irradiación sobre los  $\beta$ -glucanos.

Las cebadas sin tratamiento muestran que la variedad forrajera Pastor Ortíz es la que contiene mayor cantidad de  $\beta$ -glucanos en el mosto y Esmeralda la de menor contenido, como era de esperarse por ser una variedad maltera, además de que esta variedad fue la que presentó menor grosor de las capas de salvado. Los  $\beta$ -glucanos en el grano de cebada fueron afectados por el

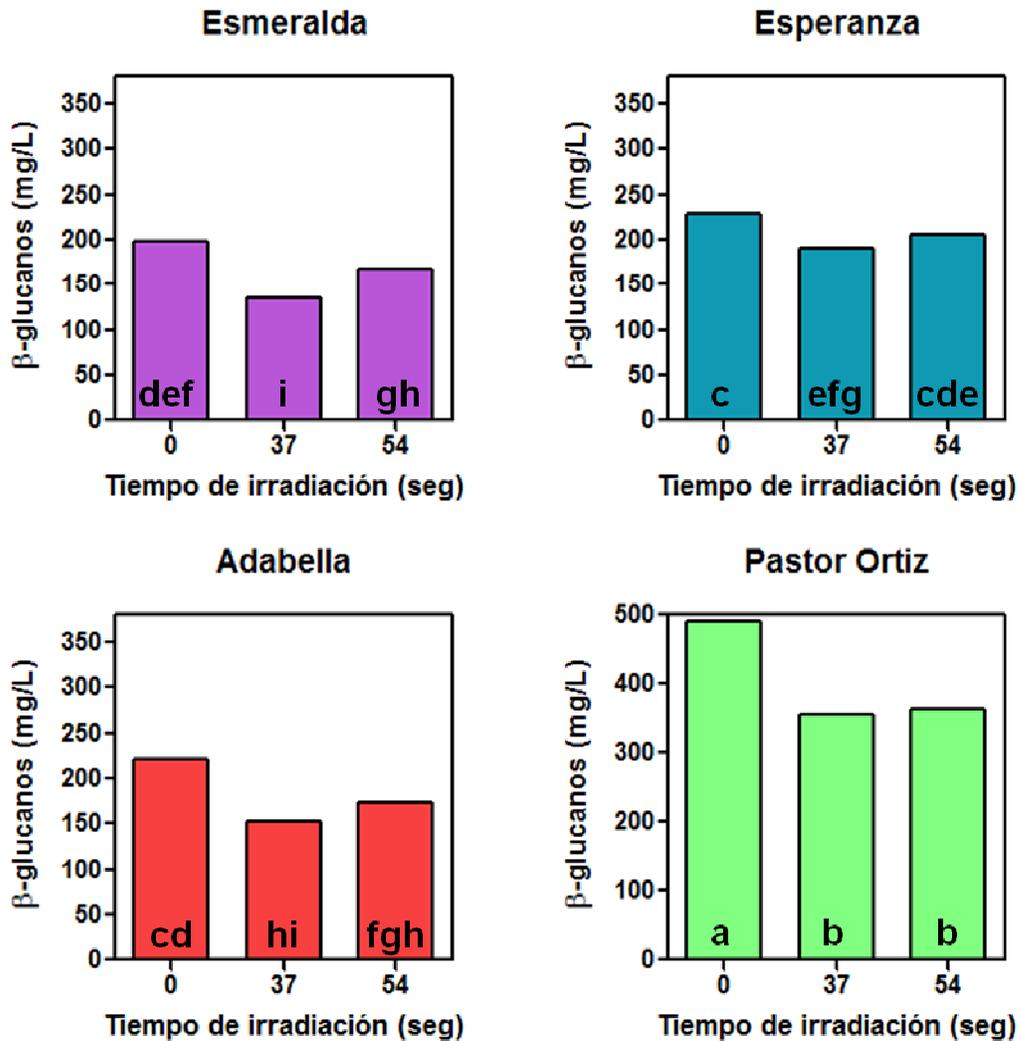
calentamiento de microondas e infrarrojo y este efecto fue reflejado en el contenido de  $\beta$ -glucanos del mosto (Figura 36 y 37). El calentamiento con microondas a 4 seg es suficiente para reducir el contenido de  $\beta$ -glucanos en el mosto de las cebadas malteras y forrajeras, presentando diferencias significativas en comparación al control (Figura 36). La variedad Esmeralda mostró alta extractabilidad de  $\beta$ -glucanos después de 8 seg de calentamiento (200.25 mg/L), más aun que el control (160.99 mg/L). En el caso de la variedad Pastor Ortiz y Esperanza la extractabilidad de  $\beta$ -glucanos a 8 seg fue similar al del control, no habiendo diferencias significativas.



**Figura 36.** Efecto de la irradiación de microondas sobre el contenido de  $\beta$ -glucanos en el mosto.

Los resultados obtenidos de fibra dietética (Cuadro 16) indicaron cambios debidos al calentamiento por microondas en el contenido de la fibra soluble, donde forman parte los  $\beta$ -glucanos, estos cambios en el contenido de fibra están relacionados con los cambios que suceden en los  $\beta$ -glucanos por efecto de las microondas, posiblemente afecta la parte lineal de las cadenas de  $\beta$ -glucanos debilitando los puentes de hidrógeno entre cadenas adyacentes de este polisacárido. Knuckles *et al.* (1997) reportan que los  $\beta$ -glucanos disminuyeron su peso molecular en agua caliente y la extracción se incremento a 25, 65 y 100°C. Resultados similares encontrados por Rose *et al.* (2010) indican que las condiciones del procesamiento de los alimentos pueden afectar la extractabilidad y peso molecular de  $\beta$ -glucanos y arabinosilanos en los cereales.

En los tratamientos con infrarrojo se observo que a tiempo de 37 seg los  $\beta$ -glucanos disminuyen en las cuatro variedades (Figura 37) habiendo diferencias significativas con respecto al control. A tiempo de 54 seg el contenido de  $\beta$ -glucanos se incrementa significativamente pero solo en la variedad Esmeralda. En las otras variedades el contenido de  $\beta$ -glucanos en el mosto es similar entre los tratamientos. Ambos tipos de radiación afectaron el contenido de  $\beta$ -glucanos en el mosto, confirmando la disminución de la viscosidad del mosto en granos sometidos a radiación de microondas e infrarrojo (Figura 21 y 22). Los efectos que se producen pueden ser posibles sobre los  $\beta$ -glucanos que se encuentran como pared del endospermo almidonoso y en la capa de aleurona (Woodward *et al.*, 1983) permitiendo mayor acceso de las enzimas al almidón para poder hidrolizarlo y dar lugar a mayor cantidad de azúcares fermentables (mayor extracto de malta). Adicionalmente Dawkins y Nnanna (1995) reportaron que la temperatura produce cambios reversibles en la viscosidad de los  $\beta$ -glucanos, generalmente decrece con la temperatura, pero esto solo es observado en  $\beta$ -glucanos de cebada cuando se incrementa la temperatura, porque en  $\beta$ -glucanos de avena sucede el efecto contrario. Lo cual concuerda con la disminución de la viscosidad del mosto (Figura 21 y 22), producida por posibles cambios estructurales en las micelas de los  $\beta$ -glucanos.



**Figura 37.** Efecto de la irradiación de infrarrojo sobre el contenido de  $\beta$ -glucanos en el mosto.

La reducción del contenido de  $\beta$ -glucanos por efecto del calentamiento es un aporte importante para la industria cervecera. Los  $\beta$ -glucanos han sido reconocidos como una causa potencial de problemas en el proceso de elaboración de cerveza. Esto incluye pobre conversión del macerado, retardan e ineficientan la filtración de mosto y cerveza, además de producir una turbidez coloidal al final del producto (Bamforth, 1982). Por ello se usan cebadas con bajo contenido de  $\beta$ -glucanos y en las cebadas forrajeras uno de los impedimentos para emplearlas es el contenido alto de  $\beta$ -glucanos, con los tratamientos aplicados de radiación el

contenido de  $\beta$ -glucanos extraídos en el mosto disminuye siendo similar al de las cebadas malteras.

Por otra parte se puede relacionar a los  $\beta$ -glucanos con las propiedades mecánicas porque ambas mediciones presentan el mismo comportamiento al ser irradiados los granos de cebada con microondas e infrarrojo, los  $\beta$ -glucanos presentaron una alta correlación con la dureza del grano ( $r = 0.87$ ) y con el módulo de elasticidad ( $r = 0.92$ ). Resultados similares fueron obtenidos por Nielsen (2003) y Gamlath *et al.* (2008) indicaron que la dureza está altamente correlacionada con el contenido de  $\beta$ -glucanos del grano de cebada ( $r = 0.86$ ). Algunos autores sugieren que las proteínas son las causantes de la dureza del grano y están altamente relacionadas con las propiedades mecánicas del grano (Chandra *et al.*, 1999; Chandrashekar y Mazhar, 1999; Palmer, 2000), sin embargo en este trabajo se observó que la radiación no tenía efecto sobre las proteínas, el contenido no cambia y el de los  $\beta$ -glucanos si se ve afectado significativamente, así como la viscosidad.

#### **5.11 Espectroscopía de infrarrojo. Reflectancia Difusa de Infrarrojo por transformada de Fourier (DRIFT)**

La espectroscopía de infrarrojo DRIFT es una herramienta ampliamente usada por su capacidad de detectar variaciones mínimas en las moléculas y específica por la vibración de los grupos funcionales. Principalmente es uno de los métodos más usados para la detección de cambios en la estructura secundaria de las proteínas (Makarenko *et al.*, 2002 Wellner, *et al.*, 2005; Byaruhanga, *et al.*, 2006; Serrano *et al.*, 2007). Por lo anterior se realizó DRIFT para determinar los cambios se llevaron a cabo por efecto de la irradiación a nivel molecular, esencialmente enfocados a la estructura secundaria de las proteínas.

En la Figura 38 se muestra el espectro general de DRIFT de la variedad Esmeralda para tratamientos con microondas e infrarrojo, es representativo de todas las variedades porque siguen el mismo comportamiento. En la primera

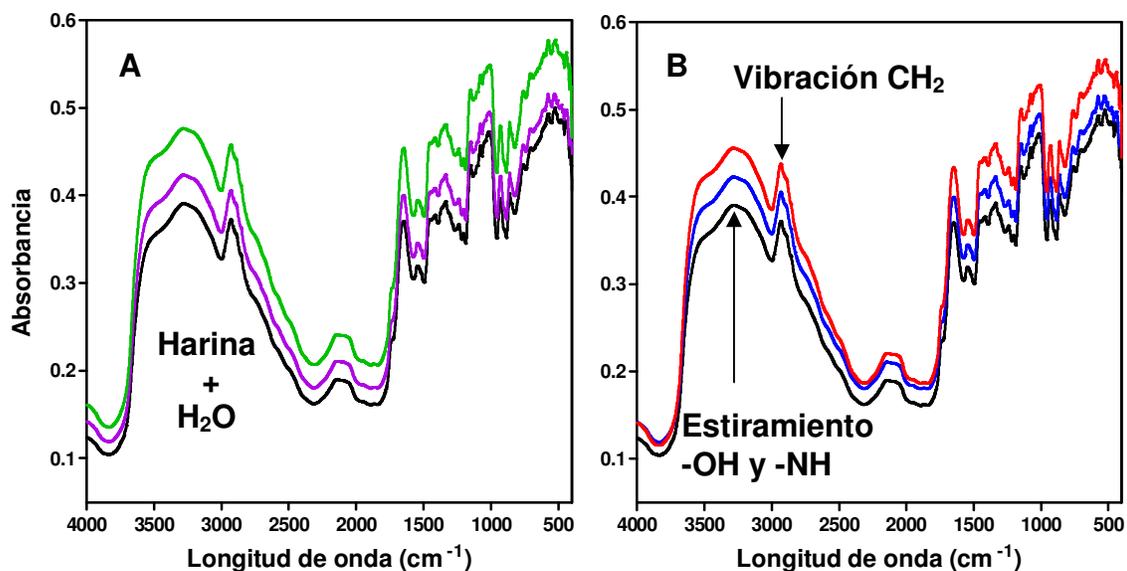
región del espectro de DRIFT después de 1500  $\text{cm}^{-1}$  fueron localizados los grupos funcionales, en esta región se observaron grupos funcionales que corresponden a la harina de cebada y del agua. Se denota una banda a 3300  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde a estiramientos OH asociados y estiramientos NH (Robertson *et al.*, 2006) que representan a la molécula del agua y las proteínas respectivamente. Modos vibracionales del grupo  $\text{CH}_2$  fueron observados a 2925 y 2854  $\text{cm}^{-1}$  estos están relacionados con polisacáridos del pericarpio del grano, así como una banda en 3005  $\text{cm}^{-1}$  es vibración del CH unido a C-C de doble enlace relacionado a lípidos insaturados del germen (Barron y Rouau, 2008).

En los espectros se encuentra una segunda región que pertenece a vibraciones de las huellas digitales (Barron y Rouau, 2008) que aparecen por debajo de 1500  $\text{cm}^{-1}$  y es donde se obtiene mayor información del efecto de radiación sobre los componentes del grano de cebada y una confirmación de los grupos funcionales encontrados en la primera parte para determinar la molécula que está vibrando.

Se observó que los espectros de infrarrojo de los controles tienen menos absorbancia que aquellos que pertenecen a los tratamientos de microondas e infrarrojo. Las bandas de los espectros a 4 seg con microondas y 37 seg con infrarrojo absorben más que a 8 seg y 54 seg respectivamente, además de que es evidente que los tratamientos con microondas tienen bandas con mayor absorbancia que los tratamientos de infrarrojo, concordando con lo propuesto anteriormente de que los efectos con microondas son ligeramente mayor que los observados con infrarrojo (Figura 38).

Para un mejor análisis de las huellas digitales del espectro, este se ha dividido por secciones la primera de 1550-800  $\text{cm}^{-1}$  (Figura 38) y la segunda para observar cambios en la estructura secundaria de la proteína de 1800-1400  $\text{cm}^{-1}$  (Figura 38). En la primera sección se tienen las principales bandas de absorción de los polisacáridos que se encuentran a 1200-800  $\text{cm}^{-1}$ . La banda mayor se encuentra a 1035  $\text{cm}^{-1}$  puede ser asignada a una flexión C-OH con hombros a

1158 y 897  $\text{cm}^{-1}$  que son relacionados con un estiramiento asimétrico C-O-C del enlace glucosídico y del enlace  $\beta$  (1-4).

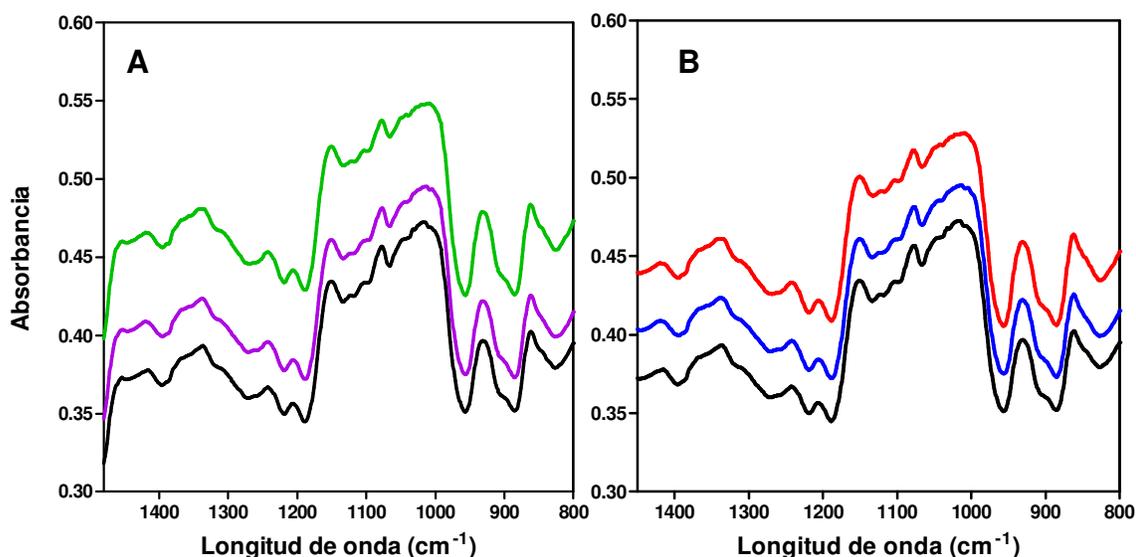


**Figura 38.** Espectros de infrarrojo medio de la variedad Esmeralda a los diferentes tratamientos. Tratamiento con microondas (A) e infrarrojo (B); Espectro negro corresponde al control, verde (4 seg), morado (8 seg), rojo (37 seg) y azul (54 seg).

Las bandas encontradas en la región de las huellas digitales de los polisacáridos están relacionadas con componentes de la capa de aleurona, los arabinoxilanos (Barron y Rouau, 2008). Un cambio también puede ser observado en la región de los polisacáridos a 994  $\text{cm}^{-1}$  relacionado con un alta cantidad de  $\beta$ -glucanos que pueden ser observados cerca del endospermo almidonoso (Robert *et al.* 2005). Picos a una longitud de onda de 1170-900  $\text{cm}^{-1}$  son asignados a un estiramiento C-O-C y CO (-CHO) del almidón (Li *et al.* 2006). Bandas a 1450-1400, 1240 y 1195-1129  $\text{cm}^{-1}$  indican al grupo carbonilo, flexión C-H, estiramiento C-H y estiramiento C-O de los lípidos (Belton *et al.* 1995). Picos a 1238-1030  $\text{cm}^{-1}$  es vibración del estiramiento C-O del grupo éster de los ácidos grasos (Chen y Irudayaraj, 1998).

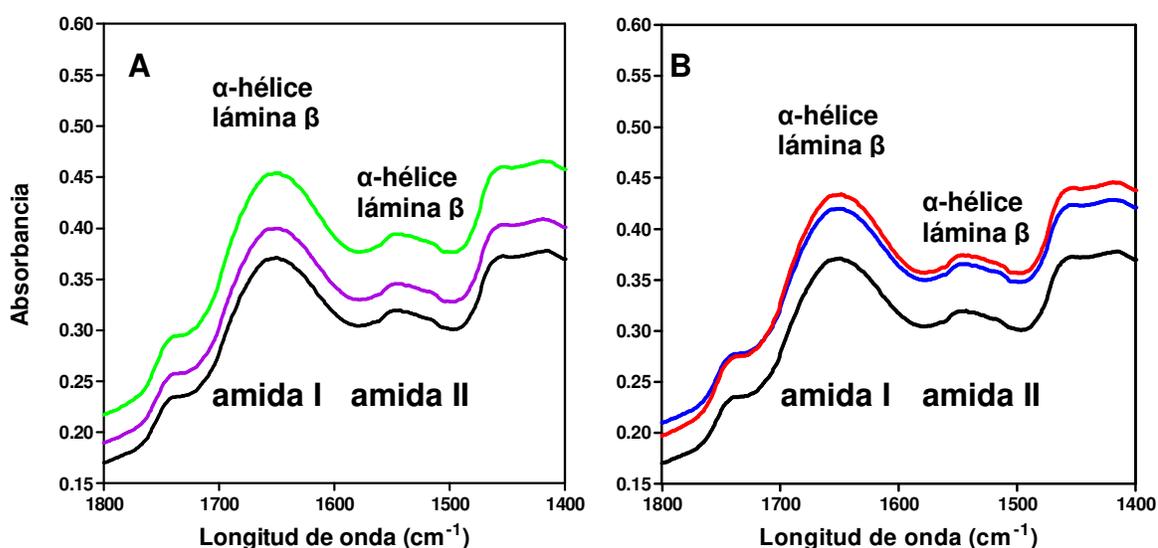
Por lo tanto como se observa en la Figura 39, los tratamientos tanto de microondas como de infrarrojo presentan mayor absorbancia de las bandas que el

control, siendo esta mayor a 8 seg de microondas y 37 seg de infrarrojo. Posteriormente a mayor exposición a la radiación la absorbancia disminuye, lo que produce una reestructuración de las moléculas. La radiación afecta a los polisacáridos, confirmando el efecto sobre los  $\beta$ -glucanos cercanos al almidón y por consecuencia también sufre cambios la estructura del almidón, así como modificaciones en la capa de aleurona. Los enlaces que son afectados posiblemente son hidrógeno-hidrógeno que se encuentran en las cadenas lineales de a molécula de  $\beta$ -glucanos y de estos mismos enlaces formados con el almidón. En el almidón el enlace glucosídico es afectado, así como las cadenas del mismo, primordialmente sobre la amilosa como se sugiere en los difractogramas de rayos X. También los ácidos grasos son afectados por la radiación. Algunos de los cambios producidos en estas moléculas pudieran deberse a la pérdida de moléculas de agua durante el calentamiento o movilidad de agua a otras regiones más afines.



**Figura 39.** Espectros de infrarrojo medio de la variedad Esmeralda a los diferentes tratamientos, mostrando detalles en carbohidratos. Tratamiento con microondas (A) e infrarrojo (B); Espectro negro corresponde al control, verde (4 seg), morado (8 seg), rojo (37 seg) y azul (54 seg).

En la segunda sección del espectro de infrarrojo de 1800-1400  $\text{cm}^{-1}$  (Figura 40), se observan dos regiones definidas de 1580-1720  $\text{cm}^{-1}$  asignado a la amida I y de 1480-1580  $\text{cm}^{-1}$  para la amida II componentes de la estructura secundaria de las proteínas (Mangavel *et al.*, 2001). La amida I corresponde a vibraciones por estiramiento de C=O en un 80%, junto con algunas contribuciones de estiramiento CN (10%), deformación CCN y flexión NH en el plano (10%) de la cadena polipeptídica. La amida II son vibraciones de estiramiento de CN (40%) y flexión de NH (60%) (Bandeekar, 1992; Kacurokova y Mathlouthi, 1996).



**Figura 40.** Espectros de infrarrojo medio de la variedad Esmeralda a una longitud de onda ampliada en la región de proteínas. Tratamiento con microondas (A) e infrarrojo (B); Espectro negro corresponde al control, verde (4 seg), morado (8 seg), rojo (37 seg) y azul (54 seg).

En la región de la amida I, el pico a una frecuencia de 1650-1658  $\text{cm}^{-1}$  es determinado para  $\alpha$ -hélice (Surewicz y Mantsch, 1988; Duodu, *et al.*, 2001), en el caso de la cebada una banda máxima a 1654 (Makarenko, *et al.* 2002). La longitud de onda de 1620-1640  $\text{cm}^{-1}$  ha sido asignada para estructuras de lámina  $\beta$  (Duodu *et al.*, 2001). En la región de amida II,  $\alpha$ -hélice puede ser localizada a 1545-1547  $\text{cm}^{-1}$  y lámina  $\beta$  a 1524  $\text{cm}^{-1}$  (Surewicz y Mantsch, 1988; Duodu, *et al.*, 2001). Una banda entre 1660-1670  $\text{cm}^{-1}$  son de giros  $\beta$  (Hollósi *et al.*, 1994). Bandas a 1612  $\text{cm}^{-1}$  y 1633  $\text{cm}^{-1}$  representan estructuras intermoleculares e

intramoleculares de lámina  $\beta$ , respectivamente (Popineau, *et al.*, 1994; Wellner, *et al.*, 2005). Picos de 1651-1648 son hidrógenos de  $\alpha$ -hélice unidos a moléculas de agua (Jackson *et al.*, 1991; Belton, *et al.*, 1995; Allain, *et al.*, 1999). Lámina  $\beta$  antiparalela se localiza a 1686-1680  $\text{cm}^{-1}$  (Naumann *et al.*, 1993; Allain, *et al.*, 1999; Dornberger *et al.*, 1996; Meng y Ma, 2001).

En esta sección de los espectros (Figura 40), se denotan cambios en la estructura secundaria de las proteínas por efecto del calentamiento con microondas e infrarrojo. Esto se infiere por el desplazamiento del espectro hacia una mayor absorbancia a tratamientos de radiación. Habiendo un efecto mayor a 8 seg de microondas y 37 seg de infrarrojo (Figura 40), por lo cual estos tiempos y tipos de radiación produjeron cambios en la estructura de  $\alpha$ -hélice y lámina  $\beta$  en cualquiera de sus componentes giros  $\beta$ , así como cambios intra e inter moleculares de la lamina  $\beta$ , propios de la estructura secundaria. El aumento de absorbancia de las bandas también puede ser como resultado de la ruptura de enlaces hidrógeno que producen un desenrollamiento parcial de  $\alpha$ -hélice y una apertura de lámina  $\beta$ , como resultado de la pérdida de estabilidad de la proteína y por lo tanto de la estructura secundaria, debido a que los enlaces de hidrógeno son los que estabilizan la estructura secundaria de las proteínas (Fennema, 2000). Así como pérdida de puentes de hidrógeno entre la unión de proteína-almidón. Al momento de incrementarse el tiempo de radiación a 8 seg y 54 seg, de cada una de las ondas electromagnéticas usadas, la absorbancia de las bandas de la región de amida I y amida II decrecen produciendo un reacomodo al azar de la proteína semejante al control (Rodríguez, 2010).

Algunos autores obtuvieron resultados similares a los presentados en este trabajo, cuando las proteínas fueron sometidas a algún tipo de calentamiento la intensidad del espectro de infrarrojo tendió a incrementar en la región de amida I y amida II. Rodríguez (2010) reporta que en maíz al ser irradiado con microondas hasta 15 seg aumento la absorbancia de las bandas de amida I y II, pero a tiempos mayores decreció de nuevo la absorbancia. Esta tendencia fue seguida también en trigo donde la máxima absorbancia se logra a 5 seg y posteriormente

cae (Hernández, 2011). En karifina también se obtuvo un comportamiento similar, calentando a 96°C y a diferentes tiempos con esa temperatura constante la absorbancia se incremento en todos los tiempos (Byaruhanga *et al.*, 2006).

## VI. CONCLUSIONES

La radiación con microondas e infrarrojo afectaron de forma negativa la germinación del grano de cebada, siendo aún viable a tiempos menores de 10 seg de microondas y de 55 seg de radiación de infrarrojo.

El extracto de malta se incremento a tiempos cortos de irradiación, aproximadamente un 7 % con tratamiento de microondas y de 4 % con infrarrojo en cebadas forrajeras y malteras. Este variable es la de mayor importancia a nivel industrial, y la irradiación produce una mayor extracción de azúcares fermentables en el mosto, dando lugar a un mayor sustrato para la levadura en la producción de cerveza. Los tratamientos de irradiación microondas e infrarrojo en cebadas forrajeras les da el potencial para ser empleadas como una nueva alternativa en la industria maltera.

El calentamiento a temperaturas menores de 50 °C por la exposición a microondas e infrarrojo no afecto el contenido de proteína total, soluble e índice de Kolbach del mosto. De la misma forma a los tiempos de irradiación empleados no se afecto la actividad de los sistemas enzimáticos, representados por el poder diastásico y  $\alpha$ -amilasa.

La dureza del grano de cebada a tiempos cortos de irradiación de microondas e infrarrojo disminuyó en ambos tipos de cebada. También el módulo de elasticidad fue menor a 4 seg de microondas y 37 seg de IR. A tiempos mayores de irradiación la dureza y el módulo aumentaron.

Las micrografías del salvado de la cebada demostraron que el grosor de las diferentes capas que lo conforman tiene relación con el comportamiento de las propiedades mecánicas del grano. Granos con mayor grosor de cáscara y salvado (pericarpio, testa y aleurona) dan lugar a variedades con mayor dureza y módulo, que granos de menor grosor, resultando en cebadas de baja calidad maltera.

Los gránulos de almidón observados en SEM mostraron daños en la superficie por efecto de la radiación después del remojo, siendo más evidentes estos daños con irradiación de microondas. También se obtuvo un mayor hinchamiento de los gránulos de almidón por efecto de la irradiación y así una mayor capacidad de absorción de agua.

El análisis con rayos X demostró que las microondas y el IR produjeron modificaciones en la estructura del almidón, lo que se sugiere que la cadena lineal del almidón (amilosa) fue la más afectada, al observarse cambios a una distancia interplanar de 4.4 Å que representa el complejo amilosa-lípido. Los cambios producidos en el almidón dan lugar a una disminución en la cristalinidad a tiempos cortos de irradiación, pero a tiempos mayores el almidón sufre una restructuración de la forma ordenada y la cristalinidad aumenta.

Debido a los daños producidos por la irradiación los gránulos de almidón tienden a colapsar más rápido cuando son sometidos a calentamiento con agua, dando lugar a una disminución de la viscosidad máxima en los perfiles de viscosidad. Infiriendo que el efecto es mayor en la amilosa y la lixiviación de esta molécula durante la gelatinización podría ser en menor tiempo.

La electroforesis SDS-PAGE, así como la RP-HPLC revelaron que no existieron cambios en el peso molecular de las fracciones de hordeína del grano. La concentración relativa de las bandas de electroforesis mostró que hay mínimos efectos principalmente a tratamientos con microondas. Sin embargo, los cambios producidos en la hordeína por la radiación son de posibles rupturas de enlaces hidrógeno o hidrógeno-oxígeno y esto origina cambios en la hidrofobicidad de la proteína. Además, la cromatografía sugiere cambios estructurales de la proteína que modifican la percepción de la absorbancia del grupo cromóforo, siendo menor con los tratamientos.

La exposición a la radiación afecto cadenas de polisacáridos no amiláceos, como son los presentes en la pared celular del grano de cebada ocasionando una disminución en la fibra soluble y dietética total a tiempos cortos de radiación y se revierte el efecto a tiempos prolongados de calentamiento. La fibra soluble presentó una tendencia diferente, la aplicación de temperatura al grano de cebada por la radiación aumenta el contenido de este tipo de fibra.

Las microondas y el IR, a 4 y 37 seg respectivamente, afectaron las cadenas de los  $\beta$ -glucanos causando una disminución de estos polisacáridos en el mosto. La irradiación puede producir una ruptura de los enlaces hidrógeno-hidrógeno que existen en las cadenas lineales de la los  $\beta$ -glucanos y aquellos enlaces hidrógeno-hidrógeno unidos al endospermo almidonoso. A tiempos mayores de radiación el efecto se revierte. Estas modificaciones en  $\beta$ -glucanos se ven reflejadas en el contenido de la fibra dietaria y la disminución de la viscosidad del mosto.

La espectroscopia de DRIFT sugiere efectos de la radiación sobre almidón, lípidos, proteína y polisacáridos de la pared celular del grano. El calentamiento con microondas e IR destabilizan los enlaces hidrógeno-hidrógeno produciendo un incremento en la absorbancia. Mostrando vibraciones mayores de las moléculas de las cadenas de los polisacáridos originadas por cambios en la interacción almidón-  $\beta$ -glucanos y almidón-proteína.

Las proteínas mostraron cambios en los espectros de DRIFT. Se observaron dos bandas anchas a 1480-1520  $\text{cm}^{-1}$  y otra a 1580-1720  $\text{cm}^{-1}$  que son denominadas como amida I y amida II, están relacionadas con la estructura secundaria de las proteínas. En estas regiones se observaron cambios de absorbancia que representan cambios en  $\alpha$ -helice y lámina  $\beta$  por efecto de la radiación. Existen pérdidas de puentes de hidrógeno que originan una destabilización de la estructura secundaria a tiempos cortos, sin embargo a tiempos mayores de irradiación hay un reacomodo al azar de la proteína.

En conjunto todos los cambios producidos en las estructuras de polisacáridos, lípidos, proteína y en la movilidad del agua dan como resultado un mejoramiento de la calidad global del grano de cebada. Incrementando la calidad de las cebadas malteras y mejorando la calidad de la cebada forrajera Adabella pudiéndose emplear como cebada maltera con un menor costo. Sin embargo la variedad Pastor Ortiz aún después de la irradiación no cumple con las especificaciones de cebada maltera.

La variedad Pastor Ortiz como cebada forrajera es una buena fuente de enzimas amilolíticas. Además de tener un mayor contenido de  $\beta$ -glucanos que podría emplearse como alimento de consumo humano por el efecto hipocolesterolémico demostrado de este tipo de polisacáridos.

## VII. BIBLIOGRAFÍA

- AACC-International. 1995. Approved methods of American Association of Cereal Chemists. AACC International, St. Paul, MN, EE.UU.
- Afzal, T. M. and Abe, T. 1998. Diffusion in potato during far infrared radiation drying. *J. Food Eng.* 37(4):353–65.
- Agriculture Western Australian. 1997. Malt quality parameters for malting barley. Research Agronomist, plant research and development services, Northam. Blakely Paynter. Farmnote.
- Allain., A. F., Paquin, P. and Subirade, M. 1999. Relationships between conformation of  $\beta$ -lactoglobulin in solution and gel states as revealed by attenuated total reflection fourier transform infrared spectroscopy. *Int. J. Biol. Macromol.* 26: 337-344.
- Allison, M. J. and Bain, H. 1986. The use of reversed-phase high performance liquid chromatography as an aid to the identification of European barley cultivars. *Euphytica.* 35: 345-351.
- Allison, M. J., Cowe, I.A., and McHale, R. 1976. A rapid test for the prediction of malt quality. *J. Institute of Brew.* 82:166-167.
- Almgard, G. and Landegren, O. 1974. Isoenzymatic variation used for the identification of barley varieties. *Z. Pflanz.* 72:63.
- Ames, N., Rhymer, C., Rossnagel, B., Therrier, M., Ryland, D., Dua, S. and Ross, K. 2006. Utilization of diverse hulless barley properties to maximize food products quality. *Cereal Foods World.* 51 (1): 23-27.
- Analytica EBC. European Brewery Convention. 2003. Published by Fachverlag Hand Carl Nürnberg. Germany.
- Anderson, A. A. M., Cajsa, E., Anderson, R., Regnér, S. and Aman, P. 1999. Chemical and physical characteristics of different barley samples. *J. Sci. Food and Agric.* 79: 979-981.
- Anderson, A. J. and Knie, B. 1975. N-Fertilization and yield response of high lysine and normal barley. *Agron. J.* 67:695.
- Anderson, Marchington, Zymoscience and Uttoxeter. 2000. Current practice in Malting, Brewing and Distilling. In: Morris, P.C. and Bryce, J.H. (Eds.) *Cereal Biotechnology*. Cambridge, Woodhead. p. 183- 214.
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists (15<sup>th</sup> Edition). Vol. II. Edited by Kenneth Helrich.

- Baik, B. K., Ulrich, S.E. 2008. Barley for food: Characteristics, improvement, and renewed interest. *J. Cereal Sci.* 48:233-242.
- Bamforth, C. W. 2000. Brewing and brewing research: past, present and future. *J. Sci. Food Agri.* 80: 1371-1378.
- Bamforth, C. W. 1982. Barley  $\beta$ -glucans, their role in malting and brewing. *Brewers Digest.* 22: 5–6.
- Bandekar, J. 1992. Amide modes and protein conformation. *Biochim. Biophys. Acta.* 1120: 115-130.
- Banik, S., Bandyopadhyay, S. and Ganguly, S. 2003. Bioeffects of microwave-a brief review. *Bioresource Tech.* 87: 155-159.
- Banks, W. and Greenwood, C. T. 1973. Studies on the bio-synthesis of starch granules. Properties of the starch components of normal barley and barley with starch of high amylose. *Starch/Staerke.* 25: 225-230.
- Bathgate, G. N. 1989. Cereals in Scotch whisky production. *Cereal Science and technology.* G. H. Palmer, Ed. Aberdeen University Press, Aberdeen. p. 243-278.
- Bargale, P. and Irudayaraj, J. 1995. Mechanical strenght and rheological behavior of barley kernels. *Int. J. Food Sci.Tech.* 30: 609-623.
- Barron, C. and Rouau, X. 2008. FTIR and Ramman signatures of wheat grain peripheral tissues. *Cereal Chem.* 85(5): 619-625.
- Baxter, E. D. and Wainwright, P. R. 1979. Hordein and malting quality. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 5(37):8
- Belitz, H. D. y Grosh, W. 1997. *Química de los alimentos (2ª Edición).* Ed. Acribia. Zaragoza, España. p. 725.
- Belton, P. S., Coquhoun, I. J., Grant, A., Wellner, N., Field, J. M., Shewry, P. R. and Tatham, A. S. 1995. FTIR and NMR studies on the hydration of a high- $M_r$  subunit of glutenin. *Int. J. Bio. Macromol.* 17: 74-80.
- Bernussi, A. L. M. 1998. Effects of production by microwave heating alter conventional baking on moisture gradient and product quality of biscuits (cookies). *Cereal Chem.* 75: 606-611.
- Bhattacharya, M. and Basak, T. 2006. On the analysis of microwave power and heating characteristics for food processing: Asymptotes and resonances. *Food Research Int.* 39: 1046-1057.

- Bietz, J. A. 1981. Amino-terminal amino acid sequence of hordein. *Cereal Chem.* 58: 83.
- Brennan, C. S., Smith, D. B., Harris, N., y Shewry, P. R. 1998. The production and characterization of Hor 3 null lines of barley provides new information on the relationship of D hordein to malting performance. *J.Cereal Sci.* 28, 291–299.
- Briggs, D. E. 1998. *Malts and malting*. London, Blackie. Technology and Chemist of Master Brewers Association of American. 35.
- Byaruhanga, Y. B., Emmambux, M. N., Belton, P. S., Wellner, N., Ng, K. G. and Taylor, J. R. N. 2006. Alteration of kafirin and kafirin film structure by heating with microwave energy and tannin complexation. *J. Agric Food Chem.* 54: 4198-4207.
- Callejo, G. M. J. 2002. *Industrias de cereales y derivados*. Ediciones Mundi – Prensa. Madrid. p. 21-23, 25-36,169-175.
- Campaña, L. E., Sempé, M. E. and Filgueira, R. R. 1986. Effect of microwave energy on drying wheat. *Cereal Chem.* 63:271-273.
- Campaña, L. E., Sempé, M. E. and Filgueira, R. R. 1993. Physical, chemical and baking properties of wheat dried with microwave energy. *Cereal Chem.* 70 (6): 760-762.
- Castañe, F. X. y Damm, S. A. 1997. *La cerveza: historia, fabricación y propiedades*. Alimentación (Equipo y tecnología). España. 4: 41-48.
- Celandroni, F., Longo, I., Tosoratti, N., Riannessi, F., Ghepardí, E. and Solveti, S. 2004. Effect of microwave radiation on *Bacillus subtilis* spores. *J..Appied Microbiology.* 94: 1220–1227.
- Cenkowaski, S. and Sosulski, F. W. 1997. Physical and cooking properties of micronized . *J. Food Proc. Eng.* 20: 249-264.
- Chandra, G. S., Proudlove, M. O. and Baxter, E. D. 1999. The structure of barley endosperm –an important of malt modification. *J. Sci. Food Agric.* 79: 37-46.
- Chandrashekar, A. and Mazhar, H. 1999. The biochemical basis and implications of grain strength in sorghum and maize. *J. Cereal Sci..* 30 (3): 193-207.
- Chen, M. and Irudayaraj, J. 1998. Sampling technique for cheese analysis by FTIR spectroscopy. *J. Food Sci.* 63: 96-99.
- Cui, Z., Xu, S. and Sun, D. 2003. Dehydration of garlic slices by combined microwave-vacuum and air drying. *Drying Tech.* 21(7): 1173–1184.

- Culkin, K. A. and Fung, P. Y. C. 1975. *J. Milk Food Tech.* 38: 8.
- Davis, E. A. 1987. Microwave baking. *Cereal Foods World.* 32: 341.
- Dawkins, N. L. and Nnanna, I. A. 1995. Studies on oat gum [(1/3, 1/4)- $\beta$ -D-glucan]: composition, molecular weight estimation and rheological properties. *Food Hydrocolloids.* 9: 1–7.
- Dendy, D. A. V. y Dobraszczyk, B. J. 2004. *Cereales y productos derivados, Química y tecnología.* Ed. Acribia. Zaragoza, España. p. 403-421.
- Department of Agriculture. 2004. An importer's guide to U. S. Barley. Mission: Strategies, Inc. Washington, DC. p. 6-16.
- Devece, C., Rodriguez-Lopez J. N., Fenoll, L. G., Tudela, J., Catalam, J. M., Reyes. E. and Garcia-Canovas, F. 1999. Enzyme inactivation analysis for industrial blanching applications: Comparison of microwave, conventional, and combination heat treatments on mushroom polyphenoloxidase activity. *J.Agric.Food Chem.* 47(4) : 4506–4511.
- Dewar, J., Taylor, J. R. N. and Berjak, P. 1997. Determination of improved steeping conditions for sorghum malting. *J. Cereal Sc.* 26: 129-136.
- Did, C. V. 2004. *La física esta en todo: Aplicaciones de la física moderna a la vida cotidiana.* Stanford University. EE. UU.
- Dolinska, R., Warchalewski, J.R. Gralik J. and Jankowski, T. 2004. Effect of  $\gamma$ -radiation and microwave heating of wheat grain on some starch properties in irradiated grain as well as in grain of the next generation crops. *Nahrung/Food* 348 (3): 195– 200.
- Dornberger, U., Fandrei, D., Backmann, J., Hubner, W., Rahmelow, K., Guhrs, K. H., Hartmann, M., Schlott, B. and Fritzsche, H. 1996. A correlation between thermal stability and structural features of staphylokinase and selected mutants: A Fourier transform infrared study. *Biochim. Biophys. Acta.* 1294: 168-176.
- Dostie, M., Seguin, J.N., Maure, D., Tonthat, Q. A. and Chatingy, R. 1989. Preliminary measurements on the drying of thick porous materials by combinations of intermittent infrared and continuous convection heating. In: Mujumdar AS, Roques MA, editors. *Drying'89.* Hemisphere Press. New York, EE. UU.
- Du Cros, D. L. and Wrigley, C. W. 1979. Improved electrophoretic methods for identifying cereal varieties. *J. Sci. Food Agric.* 30 :785.

- Duodu, K. G., Tang, H., Grant, A., Wellner, N., Belton, P. S. and Taylor, J. R. 2001. FTIR and solid state  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopy of proteins of wet cooked and popped sorghum and maize. *J. Cereal Sci.* 33 : 261-269.
- EBC. European Brewery Convention. 2003. Section 4 Malt. Verlag Hans Carl Getranke-Fachverlag, Nürnberg, Germany.
- Edney, M.J. and Mather, D.E. 2004. Quantitative trait loci affecting germination traits and malt friability in a two-rowed by six-rowed barley cross. *J.Cereal Sci.* 39 : 283–290.
- Ellis, R. P., Swanston, J. S., Rubio, A., Perez-Vendrell, A. M., Romagosa, I. and Molina-Cano, J. L. 1997. The development of  $\beta$ -glucanase and degradation of  $\beta$ -glucan in barley grown in Scotland and Spain. *J. Cereal Sci.* 26 : 75-82.
- Etokapkan, O. U. 1993. Enzymatic degradation and nature of endosperm cell-walls of germinating sorghums and barley. *J. Sci. Food Agric.* 61: 389-393.
- Evans, D. E., MacLead, I. C., Eglinton, J. K., Gibson, C. E. Zhang, X., Wallace, W., Sherrit, J. H. and Lance, R. C. M. 1996. Measurement of beta-amylase in malting barley (*Hordeum vulgare L.*). I. Development of a quantitative ELISA for beta-amylase. *J. Cereal Sci.* 26: 229-239.
- Farmnote. 1999. Malt quality parameters for malting barley. Agriculture Western Australia. 38/96.
- Fasina, O. O., Tyler, R. T., Pickard, M. D. and Zheng. 1999. Infrared heating of hullless and pearled barley. *J. Food Proc. Preser.* 23 : 135-151.
- Fasina, O., Tyler, B., Pickard, M., Zheng, G. and Wang, N. 2001. Effect of infrared heating on the properties of legume seeds. *Int. J. Food Sci. Tech.* 36 : 79-90.
- Fennema 2000. Química de los alimentos (2da edición). Editorial Acribia S. A. Zaragoza, España. p. 471-476.
- Fenton, G.A. and Kennedy, M. J. 1998. Rapid dry weight determination of kiwifruit pomace and apple pomace using an infrared drying technique. *New Zealand J. Crop Horti. Sci.* 26: 35–8.
- Field, J. M., Shewry, P. R. and Mifflin, B. J. 1983. Aggregation states of alcohol-soluble storage proteins of barley, rye, wheat and maize. *J. Sci. Food Agric.* 34: 262.
- Figuroa, J. D. C. 1985. Métodos para evaluar la calidad maltera en cebada. Ed. SARH INIA. México. p. 13-61.

- Figuerola, J. D. C., Hernández, Z. J. E., Vélez, M. J. J., Rayas-Duarte, P., Martínez-Flores, H. E. and Ponce-García, N. 2011. Evaluation of degree of elasticity and other mechanical properties of wheat kernels. *Cereal Chem.* 88(1): 12-18.
- Figuerola, J. D. C., Madson, M. A. and D'Appolonia, B. L. 1989. The malting and brewing quality of crosses of barley anthocyanogen-free mutants. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 47 (2): 44-48.
- Figura, O. L. and Teixeira A. A. 2007. *Food Physics. Physical properties-Measurement and Applications.* Springer-Verlag Berlin Heidelberg. p. 373-389.
- Fox, G. P., Onley-Watson, K. and Osman, A. 2002. Multiple linear regression calibrations for barley and malt protein based on the spectra of hordein. *J. Institute Brew.* 108, 155–159.
- Fresh, B. J. and McRuer, G. R. 1990. Malt quality is affected by various steep aeration regimes, M. B. A. A. *Technical Quarterly.* 27: 10-14.
- Fu, W. R. and Lien, W. R. 1998. Optimization of far infrared heat dehydration of shrimp using RSM. *J. Food Sci.* 63 (1): 80-83.
- Funebo, T. and Ohlsson, T. 1998. Microwave assisted air dehydration of apple and mushroom. *J. Food Eng.* 38(3): 353–367.
- Funebo, T., Ahrne, L., Prothon, F., Kidman, S., Langton, M. and Skjoldebrand, C. 2002. Microwave and Convective dehydration of ethanol treated and frozen apple-physical properties and drying kinetics. *Int. J. Food Sci Tech.* 37(6): 603–614.
- Gabel, M. M., Pan, Z., Amaratunga, K. S. P., Harris, L. J. and Thompson, J. F. 2006. Catalytic infrared dehydration of onions. *J. Food Sci.* 71 (9): 351-357.
- Gaillard, T. and Bowler, P. 1987. *Morphology and composition of starch.* Chicester UK. p. 55-78.
- Galán, G. D., Oliver, P. R. y Estrany, C. F. 2004. *La cerveza. Alimentación, Equipos y tecnología.* Madrid, España. Vol. 23, No. 9. p. 47-50.
- Galindo, F.G., Toledo, R.T. and Sjöholm, I. 2005. Tissue damage in heated carrot slices. Comparing mild hot water blanching and infrared heating. *J. Food Eng.* 67:381–5.
- Gamlath, J., Aldred, G. P. and Panozzo, J. F. 2008. Barley (1-3: 1-4)  $\beta$ -glucans and arabinoxylan content are related to kernel hardness and water uptake. *J. Cereal Sci.* 47:365-371.

- Gates, F. K. and Dobraszczyk, B. J. 2004. Mechanical properties of oats and oats products. *Agric. Food Sci.* 13:113 - 123.
- Gaytán, M. M., Figueroa, J. D. C., Reyes, V. M. L., Rincón, S. F. and Morales, S. E. 2006. Microstructure of starch granule related to kernel hardness in corn. *Rev. Fitotec. Mex.* 29(2):135-139.
- Gellrich, C., Schieberle, P. and Herbert, W. 2003. Biochemical characterization and quantification of the storage protein (secalin) types in rye flour. *Cereal Chem.* 80(1):102–109.
- Giri, S. K. and Prasad, S. 2006. Modelling shrinkage and density changes during microwave-vacuum drying of button mushroom. *Int. J. Food Properties.* 9: 409–419.
- Giuliani, R., Bevilacqua, A., Corbo, M. R. and Severini, C. 2010. Use of microwave processing to reduce the initial contamination by *Alicyclobacillus acidoterrestris* in a cream of asparagus and effect of the treatment on the lipid fraction. *Innov. food sci. and emerging tech.* 11: 328-334. No aparece en el texto
- Gökmen. 2004 Effect of moisture content and popping method on popping characteristics of popcorn. *J. Food Eng.* 65:357-362.
- Grundas, S., Warchalewski, J. R., Dolinska, R. and Gralik, J. 2008. Influence of microwave heating on some physicochemical properties of wheat grain harvested in three consecutive years. *Cereal Chem.* 85(2): 224-229.
- Hagen, W. and Drawert, F. 1986. Determination of water content by infrared. *Monatsschrift Brauwissenschaft.* 40(6):240–6.
- Halverson, J. and Zeleny, L. 1988. Criteria of wheat quality. *Wheat: Chemistry and Technology*, Y. Pomeranz, ed. Am. Assoc. Cereal Chem.: St. Paul, MN. Vol. 1. pp. 15-46.
- Hamanaka, D., Dokan, S., Yasunaga, E., Kuroki, S., Uchino, T. and Akimoto, K. 2000. The sterilization effects on infrared ray of the agricultural products spoilage microorganisms (part 1). An ASAE Meeting Presentation, Milwaukee, WI, July 9–12, No. 00 6090.
- Harol, E., Ronald, S. K. and Ronald, S. 1987. Análisis químico de alimentos de Pearson (2ª edición). Compañía Ed. Continental S. A. de C. V. México. p. 725-731.
- Hebbar, H. U., Nandini, K. E., Lakshmi, M.C. and Subramanian, R. 2003. Microwave and infrared heat processing of honey and its quality. *Food Sci. Technol. Res.* 9:49–53.

- Hernández, E. Z. J. 2011. Tesis: Efecto de la radiación de microondas en las propiedades físico-químicas y elásticas del grano de trigo. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Querétaro, México. pp. 56-74.
- HGCA (Home Grown Cereal Authority). 2002. Ensuring good germination in malting barley. London. Topics sheet. 60.
- Holleman, M., Torries, T. R. J. M., Bisperink, C. G. J. and Ronteltap, A. D. 1991. The role of malt lipids in beer foam. Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am. 28:168-173.
- Hollósi, M., Majer, M., Rónai, A. Z., Magyar, A., Medzihradzsky, K. Holly, S. and Perezel, A. 1994. CD and Fourier transform IR spectroscopic studies of peptides II. Detection of  $\beta$  turns in linear peptides. Biopolymers. 34: 177-185.
- Hornsey, S. I. 1999. Elaboración de cerveza. Microbiología, bioquímica y tecnología. Ed. Acribia. Zaragoza, España. p. 9-44.
- Hough, J. S. 1990. Biotecnología de la cerveza y de la malta. Ed. Acribia. Zaragoza, España. p. 10-13.
- Howard, K. A., Gayler, K. R. Eagles, H. A. and Halloran, G. M. 1996. The relationship between D hordein and malting quality in barley. J. Cereal Sci. 24: 47-53.
- Huang, L. and Sites, J. 2008. Elimination of *Listeria monocytogenes* on hotdogs by infrared surface treatment. J. Food Microbiology and Safety. 73(1): 27-31.
- Hurlock, E.T., Llewelling, B.E. and Stables, L.M. 1979. Microwaves can kill insect pests. Food Manufacture. 54 (1): 37-38.
- Isla, C. R. 1998. Efecto de la salinidad sobre la cebada (*Hordeum vulgare* L.). Análisis de caracteres morfo-fisiológicos y su relación con la tolerancia a la salinidad. Servei de publicacions, Universitat de Lleida. Salamanca, España. p. 5-6.
- Jackson, M., Haris, P. I. and Chapman, D. 1991. Fourier transform infrared spectroscopic studies of Ca binding proteins. Biochem. 30: 9681-9686.
- Jane, J., Chen, Y. Y., Lee, L. F., McPherson, A. E., Wong, K. S. Rado-savljevic, M. and Kasemsuwan, T. 1999. Effects of amylopectin branch chain length and amylose content on the gelatinization and pasting properties of starch. Cereal Chem. 76:629-637.

- Kacurakova, M. and Mathlouthi, M. 1996. FTIR and laser-Raman spectra of oligosaccharides in water. Characterization of the glycosidic bond. *Carbohydr. Res.* 284: 145-157.
- Kathiravan, K., Harpreet K .K., Soojin, J., Irudayaraj, J. and Demirci, A. 2008. Infrared heating in food processing: an overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.* 7: 2-13.
- Khan, K. and Nygard, G. 2003. Wheat gluten protein analysis. In chapter 3. AACC International, St. Paul, MN, EE. UU.
- Kharaisheh, M. A. M., McMinn, W. A. M. and Magee, T. R. A. 2004. Quality and structural changes in starchy foods during microwave and convective drying. *Food Research Int.* 37: 497-503.
- Kirkman, M. A., Shewry, P. and Mifflin, B. 1982. The effect of nitrogen nutrients on the lysine content and protein composition of barley seeds. *J. Sci. Food Agric.* 33:115.
- Knuckles, B. E. and Chiu, M. C. M. 1999.  $\beta$ -glucanase activity and molecular weight of  $\beta$ -glucans in barley after various treatments. *Cereal Chem.* 76: 92-95.
- Knuckles, B. E., Yokoyama, W. H. and Chiu, M. M. 1997. Molecular characterization of barley beta-glucans by size-exclusion chromatography with multiple-angle laser light scattering and other detectors. *Cereal Chem.* 74(5): 599-604.
- Konarev, V. G., Yakubziner, N. M., Trofimovskaya, A. Y. Gavriyuk, I. P., Gubareva, N. K. and Chernoburova, A. D. 1976. The determination of cultivars of wheat and barley grain by protein formulas (in Russian). *Vestn. Skh. Nauki.* 7:84.
- Kouzeh, K. M., van Zuilichem, D. J., Roozen, J. P. and Pilnik, W. 1982. A modified procedure for low temperature infrared radiation of soybeans.II. Inactivation of lipoxygenase and keeping quality of full fat flour. *Lebensm Wiss Technol.* 15(3):139–42.
- Krokida, M. K., Zogzas, N. P, and Maroulis, Z. B. 1997. Modelling shrinkage and porosity during vacuum dehydration. *Int. J.Food Sci. Tech.* 32(6): 445–458.
- Kusada, M., Kobayashi, O., Yamaguchi, I., Taxi, N. and Takeda, C. 1991. Effects of giberellin on genetic variations in  $\alpha$ -amylase production in germinating barley seeds. *J. Cereal Sci.* 14: 151-160.

- LaBerge, D. E., MacGregor, A. W. and Meredith, W. O. S. 1973. Changes in the free sugar content barley kernels during maturation. *J. Inst. Brew.* 79: 471-477.
- Landry, J., Moureaux, T. and Huet, J. C. 1972. Extractabilité des protéines du grain d'orge. *Bios.* 7(8):281.
- Lane, R. H., Boschung, M. D. and Abdel-Ghany, M. 1985. Ascorbic acid retention of selected vegetables blanched by microwave and conventional methods. *J. Food Quality.* 8(23): 139–144.
- Lásztity, R. 1996. *The chemistry of cereal protein.* 2nd Ed. Boca raton, Florida. EE. UU. p 159-183.
- Lau, M. H. and Tang, J. 2002. Pasteurization of pickled asparagus using 915 MHz microwaves. *J. Food Eng.* 51: 283-290.
- Lewandowicz, G., Jankowski, T. and Formal, J. 2000. Effect of microwave radiation on physic-chemical properties and structure of cereal starches. *Carbohydrate polymer.* 42: 193-199.
- Lewis, J. M. and Young, W. T. 2002. *Brewing, Second Edition.* New York. p 192-202.
- Li, W., Dobraszczyk, B. j. Dias, A. and Gil, A. M. 2006. Polymer conformation structure of wheat protein and gluten subfractions revealed by ATR-FTIR. *Cereal Chem.* 83(4): 407-410.
- Llorca, M. M. 1995. Modernización de la operación de secado de malta, por aire caliente, en lecho fijo y capa profunda. *Servei de publicacions, Universitat de Lleida (online).* Salamanca, España.
- Lookhart, G. L., Bean, S. R. and Jones, B. L. 1999. Separation and characterization of barley (*Hordeum vulgare* L.) hordeins by free zone capillary electrophoresis. *Electrophoresis,* 20, 1605–1612.
- López-Perea. P., Figueroa, J. D. C., Sevilla, P. E., Roman, G. A., Reynoso, R. and Martinez, P. R. 2008. Changes in barley kernel hardness and malting quality by microwave irradiation. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 66(4):203-207.
- López-Perea. P., Guzmán, F. A. O., Santos, E. M. L., F. G. y Román, A. D. G. 2005. Evaluación de la calidad física de diferentes variedades (*Hordeum sativum* jess) cultivadas en los estados de Hidalgo y Tlaxcala, México. *Rev. Chil. Nutr.* 32: 247-253.

- MacGregor, W. A. and Batty, S. R. 1996. Barley, chemistry and technology. Published by the American Association of Cereal Chem. inc. Minnesota, EE. UU. p. 73-75.
- Makarenko, S. P., Trufanov, V. A. and Putilina, T. E. 2002. Infrared spectroscopic study of the secondary structure of wheat, rye and barley prolamins. Russian J. Plant Physiology. 49 (3): 326-331.
- Manful, J. T., Grimm, C. C., Gayin, J. and Coker, R. D. 2008. Effect of variable parboiling on crystallinity of rice samples. Cereal Chem. 85(1): 92-95.
- Mangavel, C., Barbot, J., Popieau, Y. and Guéguen, J. 2001 evolution of wheat gliadin conformation during film formation: A fourier transform infrared study. J. Agric. Food. Chem. 49: 867-872.
- Marconi, E., Rugger, S., Cappelloni, M., Leonardi, D. and Carnovale, E. 2000. Physicochemical, nutritional, and microstructural characteristics of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) and common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) following microwave cooking. J. Agric Food Chem. 48: 5986-5994.
- Martínez, B. F., Morales, S. E., Chang, Y. K., Herrera, G. A., Martínez, B. L., Rodríguez, M. E. and Flores, H. E. 1999. Effect of infrared baking on wheat flour tortillas characteristics. Cereal Chem. 76(4): 491-195.
- Masamura, A., Sado, H., Nabetani, H. and Nakajima, M. 1988. Drying of potato by far-infrared radiation. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi. 35(5):309–14.
- Matsui, K. N., Granado, L. M., Oliveira, P. V. and Tadini, C. C. 2006. Peroxidase and polyphenol oxidase thermal inactivation by microwaves in green coconut water simulated solutions. Elsevier. 40: 852-859.
- Megazyme, McCleary Method. 2006. Megazyme International Ireland Ltd. Bray business Park, Bray, Co. Wicklow, Ireland.
- Meilgaard, M. 1993. Efectos en el flavor de las innovaciones en los equipos cerveceros y en el proceso. Cerveza y malta. 148: 25-28.
- Meng, G. T. and Ma, C. Y. 2001. Fourier-transform infrared spectroscopic study of globulin from *Phaseolus sanguinis* (red bean). Int. J. Biol. Macromol. 29: 287-294.
- Meshehdani, T., Pokorny, J., davíek, J. and Pánek, J. 1990. Interactions of oxidized lipids with proteins. (Effect of the protein on the decomposition of products of the lipoxigenase-catalized oxidation in oilseeds). Die Nahrung. 34: 915-925.

- Mifflin, B. J. and Shewry, P. R. 1979. The synthesis of protein in normal and high-lysine barley seeds, in *Recent Advances In: The Biochemistry of Cereals*. Laidman, D. L. and Nones, R. G. W. Eds. Academic Press, New York. EE. UU. p 239.
- Mifflin, B. J., Field, J. M. and Shewry, P. R. 1983. In 'Seed Proteins' (J. D. D aussant, J. Mosse and J. Vaughan, eds), Academic Press, London. pp. 255-319.
- Molin, G. and Ostlund, K. 1975. Dry heat inactivation of *Bacillus subtilis* spores by means of IR heating. *Antonie van Leeuwenhoek*. 41(3):329–35.
- Molina-Cano, J. L., Sopena, A., Polo, J. P., Bergareche, C., Moraleja, M. A., Swanston, J. S. and Glidewell, S. M. 2002. Relationships between barley hordeins and malting quality in a mutant of cv. Triumph. II. Genetic and environmental effects on water uptake. *J. Cereal Sc.* 36:39-50.
- Mongpraneet, S., Abe, T. and Tsurusaki, T. 2002. Accelerated drying of welsh onion by far infrared radiation under vacuum conditions. *J. of Food Eng.* 55: 147-156.
- Muller, R. 1995. Factors influencing the stability of barley malt.  $\beta$ -glucanase during mashing. *J. Am Soc Brew. Chem.* 53 (3): 136-140.
- Mullin, J. 1995. Microwave processing. In: *New Methods of Food Preservation* (Gould G W, ed),. Blackie Academic and Professional, Bishopbriggs, Glasgow. p. 112–134
- Multon, J. L. 1996. *Analysis of food constituents*. Ed. Wiley – UCH. EE. UU. p. 281-292.
- Munck, L. 1993. On the utilization of the renewable resources. *Plant Breeding*. London. p. 500-522.
- Narasinhalu, P., Kong, D., Choo, T. D., Ferguson, T., Therrier, M. C., Ho, K. M., May, K. W. and Juli, P. I. 1994. Effects on environment and cultivar on total mixed-linkage  $\beta$ -glucan content in eastern and western Canadian barleys (*Hordeum vulgare L.*). *Canadian J. Plant Sci.* 75: 371-376.
- Naumann, D., Schultz, C., Gorne-Tschelnokow, U. and Hucho, F. 1993. Secondary structure and temperature behaviour of the acetylcholine receptor by Fourier transform infrared spectroscopy. *Biochem.* 32: 3162-3168.
- Navari, P., Andrieu, J. and Gevaudan, A. 1992. Studies on infrared and convective drying of nonhygroscopic solids. In: Mujumdar AS, editor. *Drying 92*. Amsterdam: Elsevier Science. P 685–94.

- Nielsen, J. P. 2003. Evaluation of malting barley quality using exploratory data analysis. II. The use of kernel hardness and image analysis as screening methods. *J. Cereal Sci.* 38: 247-255.
- NMX-FF-043-SCFI-2003. Norma Mexicana Productos alimenticios no industrializados para consumo humano -cereal- cebada maltera (*Hordeum vulgare* L. y *Hordeum distichum* L.). Especificaciones y métodos de prueba. Distrito Federal, México.
- Nowak, D. and Levicki, P. P. 2004. Infrared drying of apple slices. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 5:353-60.
- Nuñez, M. C. S., Méndez, M., Carmen, M. G. y Solorza, J. F. 2001. Desarrollo Tecnológico. (1<sup>ra</sup> Edición). IPN. p. 17-24.
- Oduro, I. and Clarke, B. 1999. The quality assessment of gari produced by using microwave energy. *Int. J. Food Sci. Tech.* 34(4): 365-370.
- Palmer, G. H. 1989. Cereals in malting and brewing. In: cereal science and technology. Ed. G. H. Palmer. Aberdeen University Press. Aberdeen, Scotland. p. 61-242.
- Palmer, G. H. 2000. Malt performance is more related to in-homogeneity of protein and beta glucan breakdown than to standard malt analyses. *J. Institute Brew.* 106 (3): 189-192.
- Parrsons, D. B. 1999. Trigo, avena, cebada. Manuales para educación agropecuaria. Ed. Trillas. D. F. México. p. 14-15.
- Partridge, M. A. K., Jiang, Y., Skerritt, J. H. and Schaich, K. M. 2003. Immunochemical and electrophoretic analysis of the modification of wheat proteins in extruded flour products. *Cereal Chem.* 80(6):791-798.
- Pelembe, L. A. M., Dewar, J. and Taylor, J. N. R. 2002. Effect in malting conditions on pearl millet malt quality. *J. Institute of Brew.* 108 (1): 13-18.
- Poehlman, J. M. 1985. Adaptation and distribution. Barley. Ed. American Society of Agronomy. Madison, WI. EE. UU. p. 2-17.
- Pollock, J. R. A. 1981. *Brewing Science*. Vol I. Academic Press. Reino Unido.
- Pomeranz, Y. and Williams, P.C. 1990. Wheat hardness: Its genetic, structural and biochemical background, measurement and significance. In: 'Advances in Cereal Science and Technology,' volume 10, (Y. Pomeranz, ed.) American Association of Cereal Chemistry, St Paul, MN. EE. UU. 10: 471-557.

- Ponce-García N., Figueroa J.D.C., López-Huape G.A., Martínez H.E. and Martínez-Peniche R. 2008. Study of viscoelastic properties of wheat kernels using compression load method. *Cereal Chem.* 85(5):667-672.
- Pordesimo, L. O., Ananteswaran, R. C., Fleischman, A. M., Lin, Y. E. and Hanna, M. A. 1990. Physical properties as indicators of popping characteristics of microwave popcorn. *J. Food Sci.* 55:1352-1355.
- Popineau, Y., Bonenfant, S., Cornec, M. and Pezolet, M. 1994. A study by infrared spectroscopy of the conformation of gluten proteins differing in their gliadin and glutenin compositions. *J. Cereal Sci.* 20: 15-22.
- Prabhanjan, D. G., Ramaswamy, H. S. and Raghavan, G. S. V. 1995. Microwave assisted convective air drying of thin layer carrots. *J. Food Eng.* 25(2): 283–293.
- Qi, J. C., Zhang, G. P. and Zhou, M. X. 2006. Protein and hordein content in barley seeds as affected by nitrogen level and their relationship to beta-amylase activity. *J. Cereal Sci.* 43: 102-107.
- Ramesh, M. N., Wolf, W., Tevini, D. and Bognar, A. 2002. Microwave blanching of vegetables. *J. Food Sci.* 67(1): 390–398.
- Ranki, H. 1990. Secretion of  $\alpha$ -amylase by the epithelium of barley scutellum. *J. Institute of Brew.* 96:307-309.
- Rao, M. A., Rizvi, S. H. and Datta, A.K. 2005. *Engineering Properties of Foods*. Third edition. Taylor & Francis group. Cap. 11, Dielectric properties of foods. USA.
- Reddy, M.V.B., Raghavan, G.S.V., Kushalappa, A.C. and Paulitz, T.C. 1998. Effect of microwave treatment on quality of wheat seeds infected with *Fusarium graminearum*. *J. Agric Eng. Research.* 71 (2): 113–117.
- Rhodes, A. P. and Gill, A. A. 1981. Fractionation and amino acid analysis of the salt-soluble protein fraction of normal and high-lysine barleys. *J. Sci. Food Agric.* 31:467.
- Robert, P., Marquis, M., Barron, C., Guillon, F. and Saulnier, L. 2005. FT-IR investigation of cell wall polysaccharides from cereal grains. Arabinoxylan infrared assignment. *J. Agric. Food Chem.* 53:7014-7018.
- Robertson, G. H., Gregorski, K. S. and Cao, T. K. 2006. Changes in secondary protein structures during mixing development at high absorption (90%) flour and water mixtures. *Cereal Chem.* 83(2): 136-142.
- Rodríguez, C. A. 2010. Tesis: Efecto del calentamiento con microondas en las propiedades fisicoquímicas de los granos de maíz y su relación con la

calidad de masa y tortilla. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Querétaro, México. pp. 62-89.

- Rojas-Molina, I., Gutierrez-Cortez, E., Palacios-Fonseca, A., Baños, L., Pons-Hernández, J. L., Gúzman-Maldonado, S. H., Pineda-Gomez, P. and Rodríguez, M. E. 2007. Study of structural and termal changes in endospermo of quality protein maize during traditional nixtamalization process. *Cereal Chem.* 84(4):304–312.
- Rose, D. J., Sanghoon, K. and Inglett, G. E. 2010. Influence of jet-cooking and pH on extraction and molecular weight of beta-glucans and arabinoxilan from barley (*Hordeum vulgare Prowashonupana*). *Cereal Chem.* 87(6): 607-611.
- Rosenthal. 1992. Electromagnetic radiations in food science. Ed. Springer-Verlag, New York.
- Ruíz, Y. S. 2006. Tesis: Elaboración y evaluación de maltas cerveceras de diferentes variedades de cebada (*Hordeum vulgare L.*) producidas en los estados de Hidalgo y Tlaxcala. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca, México. pp. 45-48.
- Sadeghi, A. A. and Shawrang, P. 2008. Effects of microwave irradiation on ruminal dry matter, protein and starch degradation characteristics of barley grain. *Animal Feed Sci. Tech.* 141: 184-194.
- Sakai, N. and Hanzawa, T. 1994. Applications and advances in far-infrared heating in Japan. *Trends Food Sci. Tech.* 5:357–62.
- Salcedo, G., Sanchez-Monge., R., Argamenteria, A. and Aragoncilló, C. 1980. The A-hordein as group of salt soluble hydrophopic proteins. *Plant Sci. Lett.* 19:109.
- SAS, Statistical Analysis System. 1999. User´s Guide Version 8, SAS Institute Inc. Cary, NC. 1999.
- Sawai, J., Nakai, T., Hashimoto, A. and Shimizu, M. 2004. A comparison of the hydrolysis of sweet potato starch with b-amylase and infrared radiation allows prediction of reducing sugar production. *Int J. Food Sci. Tech.* 39:967–74.
- Sawai, J., Sagara, K., Hashimoto, A., Igarashi, H. and Masaru, S. 2003. Inactivation characteristics shown by enzymes and bacteria treated with far-infrared radiative heating. *Int. J. Food Sci. Tech.* (38): 661–667.
- Serna, S. S. R. 2001. Química e industrialización de los cereales. AGT Editor. México, D. F. p. 3-23, 47-73 y 79-89.

- Serrano, V., Liu, W. and Franzen, S. 2007. An infrared spectroscopic study of the conformational transition of elastin-like polypeptides. *Biophys. J.* 93: 2429-2435.
- Sharma, G. P, and Prasad, S. 2001. Drying of garlic (*Allium sativum*) cloves by microwave-hot air combination. *J. Food Eng.* 50(2): 99–105.
- Sharma, G.P., Verma, R.C. and Pathare, P. B. 2005. Thin-layer infrared radiation drying of onion slices. *J. Food Eng.* 67:361–6.
- Sharma, McVaney y Rizvi. 2003. *Ingeniería de alimentos: Operaciones unitarias y prácticas de laboratorio*. Ed. Limusa Wiley. p. 236-252.
- Shewry, P. R. and Mifflin, B. J. 1982. Genes for the storage proteins of barley. *Qual. Plant Foods Hum. Nutr.* 31: 251.
- Shewry, P. R., Ellis, J. R., Pratt, N. M. and Mifflin, B. J. 1978. Comparison of methods for the extraction and separation of hordein fractions from 29 barley varieties. *J. Sci. Food Agric.* 29:433.
- Soysal, Y. 2004. Microwave drying characteristics of parsley. *Biosystems Eng.* 89(2): 167–173.
- Stasiak, M., Molienda, M. and Harabik, J. 2007. Determination of modulus of elasticity of cereals and rapeseeds using acoustic method. *J. Food Eng.* 82:51-57.
- Stone, B. A. 2006. Cell walls of cereal grains. *Cereal Chem.* 51(2): 62-65.
- Surewicz, W. K. and Mantsch, H. H. 1988. New insight into protein secondary structure from resolution-and enhanced infrared spectra. *Biochim. Biophys. Acta.* 952: 115-130.
- Svanberg, S. J. M., Suortti, T. and Nyman, E. M. G. L. 1997. Physicochemical changes in dietary fiber of green beans after repeated microwave treatments. *J. Food Sci.* 62(5): 1006-1010.
- Swanston, J. S., Ellis, R. P., Rubio, A., Perez-Vendrell, A. and Molina-Cano, J. L. 1994. Differences in malting performances between barleys grown in Spain and Scotland. *J. Institute Brew.* 101: 261-265.
- Tajchakavit, S. and Ramaswamy, H. S. 1997. Continuous-flow microwave inactivation kinetics of pectin methyl esterase in orange juice. *J. Food Process. Preservation.* 21: 365-378.
- Tajchakavit, S., Ramaswamy, H. S. and Fustier, P. 1998. Enhanced destruction of spoilage microorganisms in apple juice during continuous flow microwave heating. *Food Research Int.* 31 (10): 713-722.

- Tang, H., Ando, H., Watanabe, K. Takeda, Y. and Mitsunaga, T. 2000. Some physicochemical properties of small, medium and large granule starches in fractions of waxy barley grain. *Cereal Chem.* 77(1): 27-31.
- Tatham, A. S. and Shewry, P. R. 1995. Mini review-The s-poor prolamins wheat, barley and rye. *J. Cereal Sci.* 22: 1-16
- Taylor, J. R. N. 1991. Proteolysis in sorghum malting. In proceedings of the third Scientific and technical Convention. The institute of brewing central and Southern African Section, Johannesburg. p. 87-90.
- Thuery, J. 1992. *Microwaves: Industrial, Scientific and Medical Applications.* Artech House, Norwood, MA.
- Togrul, H. 2005. Simple modeling of infrared drying of fresh apple slices. *J. Food Eng.* 71:311–23.
- Tong, C. H., Sheen, S. A., Fu, Y. F., Goedereken, D. L. and Lund, D. B. 1992. Microwave heat transfer in food. In: *Advances in Food Engineering.* P. Singh and M. A. Wirakartakumumah, Eds. CRC Press: Boca Raton, FL. p. 149-163.
- Tremere, A. W. and Bhatt, R. S. 1989. Food uses of barley. *Proc. Prairie barley Symp. University of Saskatchewan.* Saskatoon, Canada. p. 123-128.
- Umesh, H. H., Vishwanathan, K. H. and Ramesh, M. N. 2004. Development of combined infrared and hot air dryer for vegetables. *J. Food Eng.* 65: 557–563.
- Uradzinski, J., Sztejn, J., Gomolka, M., Jozwik, E. and Radkowski, M. 1997. Survival of *Campylobacter jejuni* in chicken carcasses during microwave cooking. *Fleischwirtschaft.* 77: 52–54.
- Vadivambal, R. and Jayas, D.S., 2007. Changes in quality of microwave-treated agricultural products –a review. *Biosystems Eng.* 98, 1-16.
- Vadivambal, R., Jayas, D.S. and White, N.D.G. 2010. Disinfestation of stored corn using microwave energy *Agriculture and Biology. J. North America* 1(1): 18-26.
- Van Remmen, H. H. J., Ponne, C. L., Nijhuis, H. H., Bartelis, P. V. and Kerkhof, P. J. A. M. 1996. Microwave heating distributions in slabs, spheres and cylinders with relation to food processing. *J. Food Sci.* 61: 1105-1113.
- Van Zuilichem, D.J., Vant Reit, K. and Stolp, W. 1986. An overview of new infrared radiation processes for various agricultural products. *Food Eng. Process Appl.* 1:595–610.

- Velu, V., Nagender, A., Prabhakara, P. G. and Rao, D. G. 2006. Dry milling characteristics of microwave dried maize grains. *J. Food Eng.* 74(1): 30–36.
- Vis, R. B. and Lorenz, K. 1998. Malting and brewing with a high  $\beta$ -glucan barley. Academic Press Limited. p. 20-26.
- Wainwright, T. 1986. Nitrosamines in malt and beer. *J. Inst. Brew.* 92: 73-80.
- Walde, S., Balaswamy, K., Velu, V. and Rao, D. G. 2002. Microwave drying and grinding characteristics of wheat (*Triticum aestivum*). *J. Food Eng.* 55(3): 271–276.
- Walker, M. D. and Westwood, K. T. 1991. Post fermentation adjustment of beer quality using extracts from the speciality malts. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 50: 4-8.
- Wang, J. and Kuichuan, S. 2006. Far-infrared and microwave drying of peach. *LWT - Food Sci. Tech.* 39 (3): 247-252.
- Warchalewski, J. R. and Gralik, J. 2010. Influence of microwave heating on biological activities and electrophoretic pattern of albumin fraction of wheat grain. *Cereal. Chem.* 87(1): 35-41.
- Warchalewski, J. R., Gralik, J., Wojtasiak, R. Z., Zabielski, J. and Kusnierz, R. 1998. The evaluation of wheat grain odour and colour after gamma and microwave irradiation. *Electronic J. Polish Agric. Universities.* 1(1): 1–11.
- Watters, F.L. 1976. Microwave radiation for control of *Tribolium confusum* in wheat and flour. *J. Stored Products Research.* 12: 19–25.
- Wellner, N., Clare Mills, E. N., Brownsey, G., Wilson, R. H., Brown, N., Freeman, J., Halford, N. G., Shewry, P. R. and Belton, P. S. 2005. Changes in protein secondary structure during gluten deformation studied by dynamic fourier transform infrared spectroscopy. *Biomacromol.* 6: 255-261.
- Wendorf, F., Schild, R., Hadidi, N. E., Close, A. E., Kobusiewicz, M., Wieckowska, H., Issawi, B. and Haas, H. 1979. Use of barley in the Egyptian late paleolithic. *Science.* 205: 1341-1347.
- Wheith, L. and Klaushofer, H. 1993. Studies on malting technology: Aeration and enzyme activity. *Wallestein Laboratory Communications.* p. 26:59.
- Wingad, C. E., Iqbal, M., Griffin, M. and Smith, E. J. 1986. Hordein proteins from European barley by High-Performance Liquid Chromatography: Its application to the identification of barley cultivars. *Chromatographia.* 21(1): 49-54.

- Wiriyampaiwong, S., Soponronnarit, S. and Prachayawarakorn, S. 2004. Comparative study of heating processes for full-fat soybeans. *J. Food Eng.* 65: 371–382.
- Wolfgang, V. 1999. *Elaboración casera de cerveza*. Ed. Acribia S. A. Zaragoza, España. p. 21-80.
- Wood, P.J. 1993. Physicochemical characteristics and physiological properties of oat (1/3) (1/4)-b-D-glucan. In: Wood, P.J. (Ed.), *Oat Bran*. AOAC, St Paul, MN. EE. UU. p. 83–112.
- Woodward, J.R., Fincher, G.B. and Stone, B.A., 1983. Water soluble (1/3) (1/4)-b-D-glucan from barley (*Hordeum vulgare*) endosperm. II. Fine structure. *Carbohydrate Polymers*. 3: 207–225.
- Wrigley, C. W., Autran, J. C. and Bushuk, W. 1982. Identification of cereal varieties by gel electrophoresis of grain proteins, in *Advances in Cereal Science and Technology*, Vol. 5. Pomeranz, Y., American Association of Cereal Chemists. St. Paul, MN. p 211.
- Yeo, C. B. A., Watson, I. A., Stewart-Tull, D. E. S. and Koh, V. H. H. 1999. Heat transfer analysis of *Staphylococcus aureus* on stainless steel microwave radiation. *J. Applied Microbiology*. 87: 96–401.
- Yin, X. S. and MacGregor, A. W. 1989. Substrate specificity and nature of barley  $\beta$ -glucan solubilase. *J. Inst. Brew.* 95: 105-109.
- Yuanyuan, H., Jianchun, S., Fangmei, Y. and QiuHui, H. 2007. Effect of enzyme inactivation by microwave and oven heating on preservation quality of green tea. *J. Food Eng.* 78: 687-692.
- Zhang, G., Chem, J., Wang, J. and Ding, S. 2001. Cultivar and environmental effects on (1-3), (1-4)-D- $\beta$ -glucan and protein content in malting barley. *J. Cereal Sci.* 34: 295-301.
- Zhang, G., Chen, J. and Wang, J. 2002. Variation in barley endosperm  $\beta$ -glucan content in three barley cultivars as a function of spike number and within spike. *J. Cereal Sci.* 35: 99–101.
- Zia-Ur, R. and Shah, W. H. 2005. Thermal heat processing effects on antinutrients, protein and starch digestibility of food legumes. *Food Chem.* 91: 327-331.
- Zobel, H. F. 1988. Starch crystal transformations and their industrial importance. *Starch/Staerke* 40:1.

**Páginas de Internet consultadas:**

[http://www.forest.ula.ve/~rubenhg/crecimiento\\_vegetal/](http://www.forest.ula.ve/~rubenhg/crecimiento_vegetal/)

<http://braukaiser.com/wiki/index.php/Carbohydrates>

<http://grain-gallery.com/barley/3d-renderings/>

<http://www.andor.com/learning/light/>

<http://globalmicrowave.org/microwaves.php>