



INSTITUTO NACIONAL AUTONOMO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS

Fecha de presentación	Julio del 2010
Estación Experimental	Santa Catalina
Programa/Departamento	Nutrición y Calidad
Proyecto	Código: 2100527033
Resultado	Título: Valorización de cultivos y materias primas, para respaldar las certificaciones de origen. Desarrollar y aplicar procesos tecnológicos y agroindustriales, a través de sistemas integrados de calidad, sanidad e inocuidad, a lo largo de la cadena agroproductiva Número: 1
Actividad	Título: Caracterización de la calidad física, química y funcional de materias primas y productos, a lo largo de la cadena agroalimentaria Número: 1
Título:	Estudio de los beta - glucanos en líneas avanzadas y/o variedades de cebada procesada y no procesada
Ubicación	Provincia: Pichincha
Autor	Egda. Fernanda Jacqueline Moreano Culqui.
Co-Autores	Ing. Elena Villacrés
Colaboradores	Programa de Cereales.
Fecha Inicio	Julio 2010
Fecha de terminación	Abril 2011
Presupuesto	7421.98
Fuente de financiamiento	Fondos Fiscales (49.06 %): 3536.38 Tesista (50.94 %) : 3885.60

1. ANTECEDENTES

La cebada es un cereal cultivado anualmente, de ciclo vegetativo corto en relación a otras especies, que no requiere regadío, razón por la cual se adapta muy bien a zonas altas de la sierra ecuatoriana. Según datos del tercer censo nacional Agropecuario, la superficie dedicada al cultivo de cebada es de 48.874 ha, distribuidas en Chimborazo, Cotopaxi, Pichincha, Bolívar e Imbabura como provincias de mayor producción del grano, tanto para consumo familiar como para producción a gran escala (INEC-MAG-SICA, 2002), constituyéndose en la base alimentaria de una gran mayoría de la población rural y en el sustento de su economía (Martínez, 2009).

Pylkas *et al.* (2005), afirman que la cebada integral es un cereal nutritivo en el sentido más general, es decir proporciona proteína, energía, vitaminas, minerales y una distribución equilibrada de aminoácidos. Adicionalmente Miller, *et al.*, (1995), señala que alrededor del 75% de la pared celular del endospermo de la cebada, se encuentra constituido por polisacáridos solubles y oligosacáridos que incluyen moléculas con un grado de polimerización que va desde 15 hasta más de 2000 unidades denominados beta-glucanos, los que se encuentran formando parte de la fibra alimentaria soluble (Beker, 1994), la misma que tiene la capacidad de mejorar la función del colon y posiblemente reducir el riesgo de cáncer. En las capas externas del grano se concentran muchos otros componentes con funciones determinadas como ceras, ligninas, fitatos, vitaminas, minerales y compuestos fenólicos. Algunos de estos son poderosos antioxidantes y pueden presentar propiedades farmacológicas (Marlett, 2001); específicamente los beta-glucanos actúan estimulando el crecimiento de bacterias del tracto intestinal, como fuente energética para la microflora benéfica, mejorando así el tránsito intestinal y disminuyendo el colesterol asociado a las lipoproteínas de baja densidad (colesterol-LDL). McIntosh *et al.*, (1991), afirman que los beta-glucanos reducen el riesgo de enfermedades coronarias ya que modifican los lípidos sanguíneos y atenúan las respuestas de la glucosa y de la insulina en la sangre, acción fisiológica importante para las personas que padecen diabetes.

La presencia de beta - glucanos en la cebada se debe a un gen específico presente en cada uno de los genotipos (Thiel *et al.*, 2003). Es por ello que las cifras de su contenido reportan valores variables, por ejemplo (Wood, 1993), señala que las mayores concentraciones de beta - glucanos se encuentran en la cebada (3-11%) y en la avena (3-7%), concentraciones menores en el centeno (1-2%) y en el trigo (<1%). En el maíz, sorgo, arroz y otros cereales alimentarios importantes solo se han encontrado trazas.

Los resultados obtenidos en esta investigación, servirán para determinar si la cebada se ajusta a la descripción de alimento funcional, definido como aquel que además de presentar todas las características normales de un alimento, proporciona también un efecto beneficioso para la salud. En otro ámbito, el grano es insustituible para la elaboración cerveza, en este caso, los parámetros requeridos son contrarios a los que se necesitan para el consumo humano, debiendo presentar alto extracto cervecero y azúcares, bajo contenido de proteínas (9 a 11.5%), una actividad enzimática apropiada y finalmente un escaso contenido de beta - glucanos, (EBC, 1998, citado por Mazza, 2000), debido a que estos compuestos provocan turbidez en cerveza (Gómez *et al.*, 1997).

2. JUSTIFICACIÓN

El presente estudio permitirá clasificar, los materiales promisorios y variedades de cebada según su contenido de beta-glucanos. Orientando para el consumo humano los de alta concentración y para cervecera los de bajo contenido. Se enfatizará en el estudio de los materiales con alto contenido de beta- glucanos debido a su papel en la reducción del riesgo de enfermedades crónicas, como la diabetes y las enfermedades cardiovasculares.

Debido a que los beta-glucanos y la viscosidad parecen tener una importante función en la modificación de los lípidos sanguíneos, en la atenuación de las respuestas de glucosa y de insulina en sangre, el análisis se concentrará en este componente y en sus propiedades reológicas, para de esta manera fomentar el cultivo y la utilización de los materiales con características de beneficiar a la salud humana gracias a la presencia de un alto contenido en beta- glucanos, segregando los materiales con bajo contenido de estos compuestos para la industria cervecera.

El procesamiento de la cebada puede tener importantes efectos sobre las propiedades beneficiosas para la salud específicas que se le atribuyen, siendo necesario determinar el efecto de la cocción, el tostado, la escarificación y el malteado sobre el contenido de beta-glucanos. Considerándose estos procesos, por ser los que comúnmente se aplican tanto en la preparación culinaria como en el procesamiento agroindustrial del grano.

3. OBJETIVO GENERAL

Determinar el contenido de beta- glucanos en los materiales promisorios de cebada lo que permitirá establecer una clasificación apropiada de acuerdo al uso al que se le oriente.

3.1. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar el contenido de beta-glucanos en 70 líneas y/o variedades de cebada y seleccionar los materiales con alto y bajo contenido de estos compuestos.
- Determinar las propiedades reológicas de los extractos solubles de las líneas y/o variedades, con mayor contenido de beta-glucanos y determinar el grado de correlación entre la concentración de estos compuestos y la viscosidad de los mostos.
- Determinar el contenido de fibra dietética en las líneas y/o variedades de cebada seleccionadas en el primer objetivo y establecer el grado de correlación con el contenido de beta-glucanos.
- Determinar el efecto del proceso sobre el contenido de beta-glucanos en el grano escarificado, tostado, cocido y malteado, de las líneas y/o variedades de cebada seleccionadas en el primer objetivo.

4. HIPÓTESIS

Ho: Todas las líneas y variedades de cebada presentan similar contenido de beta-glucanos. Diversas técnicas de proceso no influyen en su contenido y no existe ninguna correlación entre los beta-glucanos, la viscosidad y la fibra dietética.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Materiales

La identificación de las líneas/variedades de cebada estudiarse, consta en el Anexo 1. Estos materiales serán proporcionados por el Programa de Cereales.

5.2. Reactivos

- Test kit beta - glucanos of Megazyme International
- Etanol
- Agua destilada
- Alcohol potable
- Sulfato de amonio
- Ácido sulfúrico
- Antrona
- Glucosa
- Ácido clorhídrico
- Hidróxido de sodio
- Acetona
- Pepsina
- Pancreatina

5.3. Equipos de laboratorio

- Macerador
- Viscosímetro de vidrio Cannon Frenske
- Espectrofotómetro
- Baño maría
- Termómetro
- Balanza
- Centrifuga
- Vórtex
- Molino
- Bomba de vacío.
- Tanque de remojo
- Germinador
- Tostador

5.4. Características del sitio experimental

Laboratorio de Nutrición y Calidad, INIAP, Estación Santa Catalina

Ubicación

Región: Interandina
Provincia: Pichincha
Cantón: Mejía
Parroquia: Cutuglagua
Lugar: Estación Experimental Santa Catalina

Situación geográfica

Altitud: 2.400-3.500 msnm
Latitud: 00°22`S.
Longitud: 78°23`O.
Temperatura promedio: 11.6°C

Características del clima

Humedad relativa promedio: 79 %
Precipitación anual: 1.400 mm

Fuente: www.iniap-ecuador.gov.ec, (2010)

5.5. Metodología

5.5.1. Fase 1. Determinación del contenido de beta-glucanos en 70 líneas y/o variedades de cebada

5.5.1.1. Factor en estudio: Líneas/variedades de cebada

Cuadro N°1. Tratamientos para el análisis del contenido de beta-glucanos en cebada

Líneas/Variedades de cebada
T1
T2
T3
T4
.....
T70

5.5.1.2. Unidad experimental

Estará constituido por 500 g de cada línea y/o variedad de cebada

5.5.1.3. Tipo de diseño

Se aplicará un diseño completamente al azar, con tres observaciones

5.5.1.4. Análisis estadístico

Cuadro N°2. Esquema del análisis de varianza para la determinación del contenido de beta-glucanos en cebada

Fuente de variación	Grados de libertad
Total	209
Tratamiento	69
Error	140

5.5.1.5. Análisis funcional

Si se encuentra significancia estadística en los tratamientos, se aplicará la prueba de Tukey al 5%, seleccionando las líneas y/o variedades con mayor contenido de beta-glucanos.

5.5.1.6. Variables y métodos de evaluación

- **Determinación de beta-glucanos:** Se determinará el contenido de beta-glucanos en cada una de las líneas y/o variedades de cebada, según la metodología del Anexo 2.

5.5.1.7. Manejo específico del experimento

Las líneas y/o variedades experimentales de cebada serán sometidas a secado en una estufa a 55°C durante 58 horas, para posteriormente ser molidos a un tamaño de partícula 0,5 mm. Se realizará el proceso de preparación de las muestras para precipitar el beta-glucano con sulfato de amonio; posteriormente se realizará una hidrólisis en medio ácido, para transformar los compuestos en glucosa, que será valorada por colorimetría.

5.5.2. Fase 2. Evaluación de las propiedades reológicas de los extractos solubles de las líneas y/o variedades seleccionadas en la fase 1 y determinación del grado de correlación entre la concentración de estos compuestos y la viscosidad

De la fase 1, se seleccionarán las líneas y/o variedades con mayor contenido de beta-glucanos y que se ubiquen en el primer rango de la prueba de significancia.

5.5.2.1 Factor en estudio: líneas y/o variedades de cebada

Cuadro N°3. Tratamientos para la determinación de las propiedades reológicas en extractos solubles de cebada

Tratamientos	Extractos de líneas/variedades de cebada
T1	Línea y/o variedad 1
T2	Línea y/o variedad 2
T3	Línea y/o variedad 3
T4	Línea y/o variedad 4
T5	Línea y/o variedad 5
T6	Línea y/o variedad 6
T7	Línea y/o variedad 7
T8	Línea y/o variedad 8
...	...
Tn	Línea y/o variedad n

5.5.2.2. Unidad experimental

Estará constituido por 200 g de cada línea y/o variedad de cebada

5.5.2.3. Tipo de diseño

Se aplicará un diseño completamente al azar con tres observaciones

5.5.2.4. Análisis estadístico

Cuadro N°4. Análisis de varianza para la determinación de las propiedades reológicas en extractos solubles de cebada

Fuente de variación	Grados de libertad
Total	(Kr-1)
Tratamiento	(K-1)
Error	K(r-1)

5.5.2.5. Análisis funcional

Si se encuentra significancia estadística en los tratamientos, se aplicará la prueba de Tukey al 5%.

5.5.2.6. Variables y métodos de evaluación

- **Determinación de la viscosidad:** La descripción detallada del método consta en el Anexo 5

- **Contenido de extracto del mosto:** Por gravimetría (Anexo 3.)
- **Densidad del mosto:** Con la ayuda de un densímetro
- **Grados Plato:** A través de mediciones de la densidad del mosto y fórmulas específicas para cebada y malta.

5.5.2.7. Manejo específico del experimento

Las diferentes líneas y/o variedades de cebada, serán sometidas a un proceso de malteo, a través del remojo, germinación y tostado del grano, posteriormente este será molido y a partir de suspensiones acuosas se prepararán extractos solubles con la ayuda de un macerador, los que serán filtrados en papel filtro Whatman N° 41, para obtener extractos claros en los que se determinarán los parámetros reológicos, el extracto real, la densidad y los grados plato. La expresión gráfica de la viscosidad vs el contenido de beta-glucanos, permitirá establecer la relación entre estas dos variables, a través de la determinación de los coeficientes de regresión y correlación.

5.5.3. Fase 3. Determinación del contenido de fibra dietética de las líneas y/o variedades de cebada y su relación con el contenido de beta-glucanos.

5.5.3.1. Factor de estudio: Líneas y/o variedades de cebada.

Cuadro N°5. Tratamientos para la determinación del contenido de fibra dietética de las líneas y/o variedades de cebada seleccionadas en la fase 1.

Tratamientos	Extractos de líneas/variedades de cebada
T1	Línea y/o variedad 1
T2	Línea y/o variedad 2
T3	Línea y/o variedad 3
T4	Línea y/o variedad 4
T5	Línea y/o variedad 5
T6	Línea y/o variedad 6
T7	Línea y/o variedad 7
T8	Línea y/o variedad 8
...	...
Tn	Línea y/o variedad n

5.5.3.2. Unidad experimental

Estará constituido por 100 g de cebada

5.5.3.3. Tipo de diseño

Se aplicará un diseño completamente al azar con tres observaciones

5.5.3.4. Análisis estadístico

Cuadro N°6. Análisis de varianza para la determinación del contenido de fibra dietética de las líneas y/o variedades de cebada seleccionadas en la fase 1.

Fuente de variación	Grados de libertad
Total	(Kr-1)
Tratamiento	(K-1)
Error	K(r-1)

5.5.3.5. Análisis funcional

Para los tratamientos significativos, se aplicará la prueba de Tukey al 5%, seleccionando los tratamientos que se ubiquen en el primer rango estadístico.

5.5.3.6. Variables y métodos de evaluación

- **Fibra dietética:** Se evaluará el contenido de fibra dietética según el método descrito en el Anexo 6.

5.5.3.7. Manejo específico del experimento

Se trabajará con las mejores líneas promisorias de cebada seleccionadas de la fase 1, para determinar el grado de correlación con el contenido de fibra dietética.

5.5.4. Fase 4. Determinación del efecto del proceso sobre el contenido de beta-glucanos en las líneas y/o variedades de cebada seleccionadas en la fase 1.

5.5.4.1. Factores en estudio

Cuadro N° 7. Factores en estudio para la determinación del efecto del proceso sobre el contenido de beta-glucanos en las líneas y/o variedades de cebada seleccionadas en la fase 1.

Factor en estudio	Nivel	Descripción
Líneas/variedades de cebada	C1	Línea y/o variedad 1
	C2	Línea y/o variedad 2
	C3	Línea y/o variedad 3
	C4	Línea y/o variedad 4
	C5	Línea y/o variedad 5
	C6	Línea y/o variedad 6
	C7	Línea y/o variedad 7
	C8	Línea y/o variedad 8
	...	...
	Cn	Línea y/o variedad n
Tipo de proceso	P1	Escarificado
	P2	Tostado
	P3	Cocido
	P4	Malteado

5.5.4.2. Unidad experimental

Estará constituido por 500 g de cebada

5.5.4.3. Tipo de diseño

Se aplicará un diseño completamente al azar en arreglo factorial a x b, con dos observaciones.

5.5.4.4. Análisis estadístico

Cuadro N°9. Análisis de varianza para la determinación del efecto del proceso sobre el contenido de beta-glucanos en cebada

Fuente de variación	Grados de libertad
Total	$c * p * r - 1$
Líneas promisorias de cebada (c)	$(c - 1)$
Tipo de proceso (p)	$(p - 1)$
$c \times p$	$(c-1) (p-1)$
Error	$(c-1) (p-1)(r-1)$

5.5.4.5. Análisis funcional

Para los factores e interacciones significativas se aplicará la prueba de Tukey al 5%, seleccionando aquellos que se ubiquen en el primer rango estadístico.

5.5.4.6. Variables y métodos de evaluación

- **Contenido de beta glucanos:** Se evaluará el contenido de beta-glucanos, según la metodología detallada en el Anexo 4.

5.5.4.7. Manejo específico del experimento

Las líneas y/o variedades evaluadas y seleccionadas en el objetivo específico N° 1, serán divididas en 4 grupos, disponiendo cada uno a diferentes procesos. En el primer grupo el grano será escarificado mediante un sistema abrasivo, durante 40 segundos. En el segundo grupo el grano será tostado en un tambor rotatorio, a 120°C, durante 15 minutos. El tercer grupo el grano será cocido durante 30 minutos, y finalmente en el cuarto grupo el grano será malteado, para lo cual primero se aplicará un remojo durante 48 horas, germinación durante 4 días, a 100% de humedad relativa y 16°C, finalmente se realizará un proceso de tostado final, siguiendo un programa de temperatura hasta alcanzar 70°C.

El material procesado será molido y tratado para la determinación de los beta-glucanos, según la metodología del anexo 4.

ACTIVIDADES	DURACIÓN EN MESES									
	2010						2011			
	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4
1. Revisión de literatura y realización del anteproyecto	X	X								
2. Preparación de las muestras			X							
3. Determinación del contenido de beta-glucanos en el material nativo de cebada mediante la aplicación de Kits.				X	X					
4. Preparación de extractos solubles de cebada para la determinación de las propiedades reológicas de y de beta-glucanos mediante la norma colombiana NTC-543 en las líneas/variedades de cebada.					X	X	X	X		
5. Determinar el contenido de fibra dietética en las líneas/variedades de cebada y establecer el grado de correlación con el contenido de beta-glucanos.							X	X	X	
6. Determinar el efecto del proceso sobre el contenido de beta-glucanos en el grano escarificado, tostado, cocido y malteado, en las líneas/variedades seleccionadas en el primer objetivo.								X	X	X
6. Tabulación y análisis de resultados							X	X	X	X
7. Escritura y publicación de resultados				X	X	X	X	X	X	X

7. PRESUPUESTO

CONCEPTO	UNIDAD	CANTIDAD	COSTO UNITARIO	COSTO TOTAL
A. Recursos Variables (Proyecto)				
A.1. Materia Prima				
Cebada	qq	1	25,00	25,00
A.2. Reactivos				
Test kit β - glucanos of Megazyme International	Kit	1	600,00	600,00
Fosfato de sodio	g	750	0,05	37,50
Etanol	L	24,45	21,25	519,56
Sulfato de amonio	g	180	0,05	9,00
Acido sulfúrico	L	6	20,00	120,00
Antrona	mi	320	1,00	320,00
Acido clorhidrico	L	0,615	16,00	9,84
Hidróxido de sodio	L	30	6,00	180,00
Glucosa	g	3	0,04	0,12
Pepsina	ml	30	2,40	72,00
Pancreatina	ml	30	2,22	66,60
Celita	g	3	1,00	3,00
Alfa amilasa	g	270	0,09	24,30
Diastasa	g	675	1,00	675,00
Termami	ml	3	1,00	3,00
Acetona	ml	450	0,01	4,50
A.3. Materiales de oficina				
Cartucho de impresora	U	4	35,00	140,00
CD-RW	U	4	2,50	10,00
Papel	Hojas	2000	0,04	80,00
B. Publicación (Proyecto)				
Tesis	Ejemplar	8	10,00	80,00
C. Recursos humanos				
Tesista	1		323,80	3885,60
SUBTOTAL				6865,02
Imprevistos 5%				343,25
TOTAL				7208,27
FUENTE DE FINANCIAMIENTO		Organización	Porcentaje	Aporte
		Fondos Fiscales	49,06%	3536,38
		Tesista	50,94%	3885,60
		TOTAL	100%	7421,98

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Alvarado, J; Aguilera, J. 2001. Métodos para medir propiedades físicas e industriales de alimentos. España. Editorial Acribia, S. A.
2. Beker, R.A. 1994. Potential dietary benefits of citrus pectin and fiber. *Food Technology*, 48, 133-136.
3. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. 2010, www.iniap-ecuador.gov.ec. Consultado 3 de julio de 2010.
4. INEC-MAG-SICA. 2002. II Censo Nacional Agropecuario, República del Ecuador, ed. INEC-MAG-SICA., Resultados Nacionales y Provinciales. Vol1. Table 7.
5. Figueroa J.D. 1985. Métodos de Para evaluar la calidad maltera en cebada. Secretaría de Ganadería y Recursos Hidráulicos. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. México D. F. Pp. 30-67.
6. Gómez, C., Navarro, A., Manzanares, P., Horta, A., & Carbonell, J.V. 1997. Physical and structural properties of barley (1-3), (1-4)-beta-D-glucan III. Formation or aggregates analysed though its viscoelastic and flow behavior. *Carbohydrate Polymers* Dec 20 1997, 34.
7. Marlett JA. 2001, La fibra dietética y enfermedad cardiovascular. En *Manual de fibra dietética*. Editado por: SS Cho, ML Dreher. Nueva York: Marcel Dekker, pp:17-25. .
8. Martínez, L. (2009), Economía Política de las comunidades indígenas. Quito: Abya Yala, 2da, edición. p. 209.
9. Mazza, G. 2000. Alimentos funcionales: aspectos bioquímicos y de procesado. Zaragoza, España : Acribia, p. 1-32.
10. McIntosh, G. H., J. Whyte, R. McArthur and P. J. Nestel, 1991. "Barley and wheat foods: influence on plasma cholesterol concentrations in hypercholesterolemic men." *Am. J. Clin. Nutr.* 53:1205-1209.
11. Miller, S. M., R. G. Fulcher, A. Sen and J. T. Amason, 1995, "Oat endosperm cell walls: Isolation, composition and comparison with other tissues." *Cereal Chem.* 72:421-427.
12. PERRY y CECIL, 1986. Manual del Ingeniero Químico.
13. Pylkas AM, LR Juneja, JL Slavin, 2005, Comparación de las diferentes fibras para la producción in vitro de ácidos grasos de cadena corta por la microflora intestinal. 2005 *Alimentos*, 8: 113-116. www.nutritionj.com
14. Singh y Heldman, 2001. Introduction to Food Engineering.
15. Thiel T., J. Whyte, R. McArthur and P. J. Nestel. 2003. *Theor. Appl. Genet.* 106:411-422.
16. Wood. P. J., 1993. "Physiochemical characteristics and physiological properties of oat (1-3)(1-4)-β-D-glucan." *Oat bran*, P. J. Wood, St. Paul, MN: Amer. Assoc. Cereal Chem, pp. 83-112.

9. ANEXOS

Anexo 1. Descripción de Líneas y/o variedades de cebada

Nº	Código	Nombre de cruce e historial de selección	Origen
1		INIAP CAÑICAPA (variedad)	
2	CD-09-001	INIAP SHYRI 89/GRIT 7 E-II-93-8891-2E-1E-3E-1E-3E-4E-0E-0E-0E-0E-0E (línea)	INCR. Cebada 2005 S-1
3	CD-09-002	ANDESS297.91/BSRD1.72 CBSS96M00247S-1E-2E-0E-0E-0E-0E-0E-0E (línea)	S-2
4	CD-09-003	JAZMIN/CARDO/TOCTE CBSS95M00962T-F-3M-1Y-0M-0E-0E-0E-0E-0E-0E (línea)	S-4
5	CD-09-004	INIAP SHYRI 89/GRIT 9 E-II-93-8891-3E-4E-1E-1E-2E-1E-0E-0E-0E-0E-0E (línea)	S-5
6	CD-09-005	INIAP SHYRI 89/GRIT 20 E-II-93-8891-5E-2E-4E-1E-4E-5E-0E-0E-0E-0E-0E (línea)	S-7
7	CD-09-006	INIAP SHYRI 89/GRIT 3 E-II-93-8891-2E-1E-3E-1E-2E-1E-0E-0E-0E-0E-0E (línea)	S-8
8	CD-09-007	INIAP SHYRI 89/GRIT 19 E-II-93-8891-5E-2E-4E-1E-4E-2E-0E-0E-0E-0E-0E (línea)	S-9
9	CD-09-008	INIAP SHYRI 89/GRIT 43 E-II-93-8891-5E-2E-4E-1E-5E-2E-0E-0E-0E-0E-0E (línea)	INCR. Cebada 2002 PREDUZCA V-1
10	CD-09-009	CAMELOT/ALELI CBSS955Y00195S-15Y-1M-1Y-1M-0Y-0E-0E-0E-0E (línea)	INCR. Cebada 2005 S-11
11	CD-09-010	INIAP SHYRI 89/GRIT 10 E-II-93-8891-3E-4E-1E-1E-2E-4E-0E-0E-0E-0E-0E (línea)	S-12
12	CD-09-011	INIAP SHYRI 89/GRIT 17 E-II-93-8891-5E-2E-2E-1E-5E-5E-0E-0E-0E-0E-0E (línea)	S-15
13	CD-09-012	INIAP SHYRI 89/GRIT 8 E-II-93-8891-2E-1E-3E-1E-3-5E-0E-0E-0E-0E-0E-0E (línea)	Rendimiento 2004 S-14
14	CD-09-013	MSEL/AZAF CBSS96M00355S-5Y-1M-0Y-0E-0E (línea)	INCR. Cebada 2005 S-18
15	...	INIAP PACHA (variedad)	...
16	...	INIAP-ATAHUALPA (variedad)	...
17	CN-09-001	H.V-I.16.E3-0E-0E-0E (línea)	Ensayo Fitatos/09 S-8
18	CN-09-002	H.V-I.16.E3-0E-0E-0E (línea)	S-9
19	CN-09-003	H.V-III.37.E1-0E-0E-0E (línea)	S-29
20	CN-09-004	H.V-IV.52.E4-0E-0E-0E (línea)	S-33
21	CN-09-005	H.V-IV.65.E1-0E-0E-0E (línea)	S-38
22	CN-09-006	H.V-III.37.E1-0E-0E-0E (línea)	S-28

23	CN-09-007	H.V-1.2.E1-0E-0E-0E (línea)	S-4
24	CN-09-008	H.V-I.20.E1-0E-0E-0E (línea)	S-16
25	...	RITA PELADA (variedad)	...
26	CN-09-009	H.V-IV.61.E1-0E-0E-0E (línea)	S-34
27	CN-09-010	H.V-III.37.E1-0E-0E-0E (línea)	S-25
28	CN-09-011	H.V-III.37.E1-0E-0E-0E (línea)	S-24
29	CN-09-012	H.V-1.2.E1-0E-0E-0E (línea)	S-3
30	CN-09-013	H.V-IV.62.E1-0E-0E-0E (línea)	S-35
31	CN-09-014	H.V-I.20.E3-0E-0E-0E (línea)	S-15
32	CN-09-015	H.V-I.11.E2-0E-0E-0E (línea)	S-7
33	CN-09-016	H.V-I.20.E1-0E-0E-0E (línea)	S-19
34	CN-09-017	H.V-IV.65.E1-0E-0E-0E (línea)	S-36
35	CN-09-018	H.V-II.31.E5-0E-0E-0E (línea)	S-22
36	...	INIAP TERAN (variedad)	...
37	CM-09-001	CAMELOT/ALELI CBSS95Y00195S-15Y-2M-3Y-0M-0E-0E-0E (línea)	ER. 2009 V-12
38	CM-09-002	STANDER-BAR/IBTA MALTERA CBSS01Y00377S-0Y-8M-0M-2M-0Y-0E-0E (línea)	S.T./2009 S-24
39	CM-09-003	STANDER-BAR/CALI92/ROBUST CBSS01Y00377S-0Y-7M-0M-1M-0Y-0E-0E (línea)	S-23
40	CM-09-004	CALI92/KASOTA/CALI92/ROBUST C00828T-B-0Y-2M-0M-4M-0Y-0E-0E (línea)	S-17
41	CM-09-005	CALI92/ROBUST/PENCO/CHEVRON- BAR/3/SLLO/ROBUST/QUINA CBSS01Y00866T-E0Y-7M-0M-2M-0Y-0E-0E (línea)	S-2
42	CM-09-006	STANDER-BAR/CABUYA CBSS01Y00342S-0Y-2M-0M-2M-0Y-0E-0E (línea)	S-26
43	CM-09-007	LEGACY*2/5ATACO/BERMEJO/HIGO/3/CLN- B/80.5138//GLORIA-BAR/COPAL/4/CHEVRON-BAR CBSS01Y00734T-E-0Y-5M-0M-1M-0Y-0E-0E (línea)	S-7
44	CM-09-008	IBTA MALTERA/3/PUEBLA/CARDO/TOCTE CBSS00M00317S-0Y-1M-0M-1M-0Y-0E-0E (línea)	S-11
45	...	SCARLET (variedad)	...
46	...	METCALFE (variedad)	...
47	...	CLIPPER (variedad)	...
48	CM-09-009	HARRINGTON (variedad)	ENS. STRIPE RUST/09 S-408
49	CM-09-010	CAMELOT (variedad)	S-456
50	CM-09-011	NIOBE (variedad)	S-470
51	...	INIAP-DORADA (variedad)	...

52	CH-09-001	PETUNIA 2/3/GAL/PI6384//ESC.II.72.607.1E.4E.5E CBSS98Y00174S-181Y-1B-0Y-0E-0E (línea)	ER3/09 V-62
53	CH-09-002	PETUNIA 2/3/TOCTE/TOCTE//BERROS/4/CABUYA CBSS99M00395T.Q-1M-2Y-1M-0Y-0E-0E (línea)	V-66
54	CH-09-003	EBC(A)/PALTON//CABUYA CBSW99WM0073T-AA-1M-1Y-1M-0Y-0E-0E (línea)	V-63
55	CH-09-004	QUINN/ALOE//CARDO/3/CIRU CBSS99M00038S-11M-1Y-1M-0Y-0E-0E (línea)	V-56
56	CH-09-005	ATAH92/GOB//F101.78/3/ARUPO/K8755//MORA (línea) CBSS97MOO686T-B-1M-1Y-1M-1Y-1M-0Y-0E-0E (línea)	V-51
57	CH-09-006	MJA/BRB2//QUINA/5/DC-B/SEN/3/AGAVE YANALA//TUMBO/4/CEN.B*CALI92/6/TOCTE/3/GAL/PI6384//ESC .II.72.607.1E.4E.5E CBSS99M00383D-14B-2Y-2B-0Y-0E-0E (línea)	ER4/09 V-91
58	CH-09-007	ENCINO/CIRU//CABUYA CBSS99Y00328T-0TOPM-4Y-1M-1Y-2M-0Y-0E-0E (línea)	V-93
59	CH-09-008	MJA/BRB2//QUINA/5/DC-B/SEN/3/AGAVE YANALA//TUMBO/4/CEN.B*CALI92/6/TOCTE/3/GAL/PI6384//ESC .II.72.607.1E.4E.5E CBSS99M00383D-8B-1Y-2B-1Y-0B-0E-0E (línea)	V-92
60	...	INIAP-QUILOTOA (variedad)	...
61	CH-09-009	CIRUELO CMB92.419-H-1Y-1M-1Y-1B-0Y-0E-0E (línea)	V-84
62	CH-09-010	OPTIMA-BAR//BLLU//LA MOLINA 94 CBSW99WM00105T-1-1M-1Y-2M-0Y-0E-0E (línea)	V-87
63	CH-09-011	MJA/BRB2//QUINA/5/DC-B/SEN/3/AGAVE YANALA//TUMBO/4/CEN.B*CALI92/6/TOCTE/3/GAL/PI6384//ESC .II.72.607.1E.4E.5E CBSS99M00383D-14B-2Y-1B-1Y-0B-0E-0E (línea)	V-74
64	CH-09-012	M94060003 (línea)	S.T/09 S-74
65	CH-09-013	ZIGZIG/BLLUP//PETUNIA 1 CBSS01Y00778T-E-0Y-2M-0M-1M-0Y-0E-0E (línea)	S-12
66	CH-09-014	PFC9202/LA MOLINA94 CBSS01Y00232S-0Y-3M-0M-1M-0Y-0E-0E (línea)	S-31
67	CH-09-015	MN BRITE/LEGACY CBSS01Y003548-0Y-7M-0M-1M-0Y-0E-0E (línea)	S-29
68	CH-09-016	TOCTE/JUGL//SUCHE (línea) CBSS01Y00881T-T-0Y-11M-0M-2M-0Y-0E-0E	S-28
69	CH-09-017	TOCTE/JANE//TOCTE/SUCHE CBSS01Y00862D-L-0Y-3M-0M-2M-0Y-0E-0E (línea)	S-30
70	...	FRANCISCANA (variedad)	...

Anexo 2. Contenido de beta-glucanos

Principio

La D-glucosa producida es ensayada usando un reactivo glucosa/oxidasa/peroxidasa, produciendo una coloración verdosa que será leída a 510nm.

Nota

El contenido total de beta-glucanos en la cebada de un 4% (p/p), el método es exacto a $4.0 \pm 0.1\%$ (p/p)

Kits

Kit Megazyme para aproximadamente 100 ensayos y cuenta con:

- Botella 1: Liquefasa [endo-(1-3)(1-4)-b-D-glucano 4-glucanohidrolasa, específica] suspendida (1 mL, 1,000 U/mL). estable por > 3 días a 4°C.
- Botella 2: Suspensión de beta - Glucosidasa (1 mL, 40 U/mL). Estable por > 3 días a 4°C.
- Botella 3: GOPOD Reagent Buffer. Buffer de fosfato de potasio (1 M, pH 7.4), ácido p hydroxybenzoico (0.22 M) y azida de sodio (0.4 % w/w). estable por > 3 días a 4°C.
- Botella 4: **GOPOD** Reagent Enzymes. Glucosa oxidasa (> 12,000 U) mas peroxidasa (> 650 U) y 4-aminoantipiridina (80 mg). Polvo seco congelado. Estable por > 5 días a -20°C.
- Botella 5: Solución estándar D-Glucosa (5 mL, 1.0 mg/mL) en 0.2 % (w/v) ácido benzoico. Estable por > 5 días a un cuarto de temperatura.
- Botella 6: Control estandarizado de harina de cebada. Frasco pequeño que contiene b-Glucano. Estable por > 5 días a un cuarto de temperatura.
- Botella 7: Control estandarizado de harina de avena. Frasco pequeño que contiene b-Glucano. Estable por > 5 días a un cuarto de temperatura.

Preparación de los reactivos, soluciones y suspensiones.

1. Diluir el contenido de la botella 1 (liquefasa) en 20 ml con 20mM del buffer de fosfato de sodio a pH 6.5. Dividir apropiadamente la alícuotas en los tubos de polipropileno entre unos -20°C úsese durante todo el tiempo frío si es posible. Es estable por > 2 días a -20°C.

Nota: Es importante que la liquefasa no se contamine con la beta - glucosidasa.

2. Diluir el contenido de la botella 2 (beta - glucosidasa) en 20.0 ml con 50mM del buffer de acetato de sodio a pH 4. Dividir apropiadamente la alícuotas en los tubos de polipropileno entre unos -20°C úsese durante todo el tiempo frío si es posible. Es estable por > 2 días a -20°C.
3. Diluir el contenido de la botella 3 (GOPOD Reagent Buffer) a 1 litro con agua destilada. Use inmediatamente.

Nota: si la concentración de buffer es igual a -20°C. Esto podría formar cristales de sal lo cual sería más complicado disolverlas aún cuando este buffer es diluido a 1 litro con agua destilada. Este buffer contiene 0.4% (w/v) sodio. Este es un químico venenoso y podría ser por consiguiente adsorbido.

4. Disolver el contenido de la botella 4 en 20ml de la solución 3 y cuantitativamente transferir a la botella que contiene el residuo de la solución 3. Tapar la botella con papel aluminio y protegerlo de la luz ultra violeta. La determinación de la glucosa con el reactivo (GOPOD Reagent). Estable por aproximadamente 3 meses a 2-5°C o > 12 meses a -20°C. Si este reactivo tuviera que ser congelado, preferiblemente podría ser dividido en alícuotas para ser congeladas y de este modo solo ser descongelada durante su uso. Cuando este reactivo es preparado recientemente podría emitir una luz amarilla o rosada. Este podría tomar un rosado mas fuerte por encima de los 2 – 3 meses a 4°C. la Absorbancia de estas soluciones serán baja 0.05 cuando se lee contra agua destilada.

Buffer no suministrado

1. Buffer de fosfato de sodio: (20 mM, pH 6.5). Disolver 3.12 g ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) en 900ml de agua destilada y ajustar el pH a 6.5 por la adición de 100mM de hidróxido de sodio (4 g/L) aproximadamente 100 ml es requerido. Ajustar el volumen a 1 litro. Añadir 0.2 g de hidróxido de sodio. Estable por 2 meses a 4°C.
2. Buffer de acetato de sodio: (50 mM, pH 4.0). Añadir 2.3 ml de ácido acético glacial a 900 ml de agua destilada. Ajustar el pH a 4 por la adición de 1 M de la solución de hidróxido de sodio. Aforar el volumen a 1 litro. Añadir 0.2 g de azida de sodio. Estable por 2 meses a 4°C.
3. Buffer de acetato de sodio: (200 mM, pH 4.0). Añadir 11.6 ml de ácido acético glacial a 900 ml de agua destilada. Ajustar el pH a 4 por la adición de 1 M de la solución de hidróxido de sodio. Aforar el volumen a 1 litro. Añadir 0.2 g de azida de sodio. Estable por 2 meses a 4°C.

Equipo y material

- Tubos de polipropileno con tapa (capacidad de 35 ml)
- Tubos de vidrio (capacidad de 12 ml)
- Micropipetas e.g. Gilson Pipetman® (100 μL and 200 μL).
- Pipetas con desplazamiento positivo e.g. Eppendorf Multipette® con 5 ml (para dispensar alícuotas de 1 ml de buffer y solución buffer de beta glucosidasa)
- Dispensor con volumen ajustable: 0 -0.5 para el buffer de fosfato, 3 ml para el reactivo de glucosa/oxidasa/peroxidasa y de 0 – 25 ml para el agua destilada
- Balanza analítica
- Espectrofotómetro uv visible
- Vortex
- Termostato a 40°C
- Cronometro
- Papel filtro Whatman No. 41
- Centrifuga

Procedimiento

Para la determinación de este análisis se utilizará Test kit beta glucanos of Megazyme International (establecido por la Analytica EBC) que contiene Liquenasa y beta glucosidasa en una suspensión de sulfato de amonio, glucosa estándar, enzimas glucosa oxidasa/peroxidasa y harina de cebada estándar (con una concentración de beta - glucanos conocida).

- Se molerán muestras secas de cebada, posteriormente se pesarán 0.5 g de cada una colocándolas en un tubo con 1,0 ml de etanol acuoso, con ello se logrará la dispersión de la materia orgánica de las muestras, se preparará el medio añadiendo 5 ml de buffer de fosfato de sodio (0,020 mol/litro, pH = 6,5) y con agitación para que la enzima liquenasa pudiese actuar.
- Los tubos se pasaron a un baño de agua hirviendo durante 2 minutos; posteriormente se retirarán y agitarán; se calentarán por tres minutos, se mezclarán constantemente para evitar la formación de material gelatinoso. Se incubará la enzima liquenasa, para ello los tubos se enfriarán a 40° C y se adicionarán 0.2ml de liquenasa (10U) en cada tubo; se incubarán a 40° C durante 1 hora. Se extraerá el material acuoso que contiene los β-glucanos mediante centrifugación.
- Posteriormente se realizará la incubación de beta - glucosidasa de la siguiente forma:
- Blanco. 0.1ml de buffer de acetato (0,050mol/Litro, pH = 4,0) más 0.1ml de beta - glucosidasa
- Tubos muestra. Se adicionarán 0,1ml de beta - glucosidasa (0.2U en el buffer de acetato 0,050mol/Litro, pH = 4.0; los tubos anteriores se incubarán a 40° C durante 20° C.

Determinación de glucosa. A cada uno los tubos anteriores se les adicionarán glucosa oxidasa peroxidasa y se incubará a 40° C durante 15 minutos. Las muestras se leerán en un espectrofotómetro de luz ultravioleta bajo las siguientes especificaciones: Lectura 510nm (492-550), Temperatura 40° C o 50°C, Tamaño de la celda 1cm.

El contenido de beta - glucanos en la muestra se calculará con la siguiente fórmula:

$$BS = DE * F * 300 * (1/1000) * (100/W) * (162/180) = DE * (F/W) * 27$$

DE = Absorbancia de la reacción – Absorbancia del blanco.

BS = beta glucanos en % (m/m) en la muestra seca

F= 100mg de glucosa /absorbancia de 100mg de glucosa

300 = Volumen de corrección (i.e. 0,1ml tomado de 30ml).

1/1000 = Conversión de mg a mg

162/180 = Ajuste de la glucosa libre a glucosa anhidra (para obtener beta glucanos)

100/W = Factor para expresar el porcentaje de beta glucanos en harina de cebada seca.

W = Peso de la muestra seca en mg

Anexo 3. Extracto potencial

Principio

En el caso del extracto potencial, el principal objetivo es determinar el grado o factibilidad de modificación de los almidones en azúcares por acción de las enzimas, lo cual es un buen indicador de la cantidad de sustancia que se pueden extraer de la malta. La modificación del almidón presente en el endospermo de la cebada esta en función del grado de ramificación de las moléculas de amilopectina y de la cantidad de amilosa. El proceso de hidrólisis comienza al tener la muestra un tamaño óptimo de partícula (molienda fina) para que el almidón este disponible al ataque enzimático y al procurarse un medio acuoso para que la masa quede totalmente remojada y pueda liberar y activar la beta amilasa y algunas sustancias solubles como los azúcares. El proceso de modificación propiamente dicho comienza al elevarse la temperatura de 20°C hasta 50°C, y mantenerse esta última por 10 minutos, gracias a este cambio térmico los almidones en presencia de agua son convertidos en engrudo (gelatinización).

Equipo y material

- Balanza analítica
- Balanza de torsión
- Macerador con vasos de bronce o níquel
- Molino para molienda fina
- Picnómetro de 50 ml
- Embudos de núm. 15
- Baño maría a 20°C
- Matraces erlenmeyer de 125 ml
- Termómetro
- Papel filtro Schleicher and Schuell núm. 597

Reactivos

Solución de enzimas: pesar 9 g de alfa-amilasa (Wallerstein) y 22.5 g de diastasa de malta (Wallerstein) para 4.5 lt de agua destilada. Esta solución debe prepararse para ser usada inmediatamente.

Procedimiento

- Pesar 20 g de cebada molida fina en vasos de maceración y agregar 135 ml de solución enzimática
- Colocar los vasos en baño maría a 20°C por 16 a 18 horas
- Colocar los vasos en el macerador con agitación de 80 a 100 revoluciones por minuto (rpm), y aumentar la temperatura 1°C por minuto hasta llegar a 50°C, y mantenerse esta última condición por 10 minutos. Después se continúa incrementando la temperatura 1°C por minuto hasta alcanzar los 75°C, punto en el cual se mantiene constante la temperatura durante 30 minutos.

- Enfriar los vasos a 20°C y ajustar su peso a 180 g con agua destilada para las muestras, y 170.6 g para tratamiento blanco.
- Filtrar el mosto y regresar los primeros 25 ml de filtrado al embudo. Mantener el filtrado a temperatura de 20°C.
- Limpiar cuidadosamente el picnómetro y determinar su tara.
- Llenar el picnómetro con agua destilada e insertarle el tapón cuidadosamente; en seguida pesar el agua retenida por aquel a 20°C
- Enfriar el extracto de cebada a 20°C
- Llenar el picnómetro con extractos e insertar el tapón con cuidado para evitar la formación de burbujas.
- Lavar el exterior del picnómetro con agua destilada a 20°C, secar y pesar.

Cálculos

$$\%E(BS) = \frac{{}^{\circ}p(H + 800) * 100}{(100 - {}^{\circ}p)(100 - H)}$$

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

$$GS = \left[\frac{PM - PV}{PA - PV} \right] - \left(\left[\frac{PB - PV}{PA - PV} \right] - 1 \right)$$

Donde

% E (BS) = Porcentaje de extracto base seca

GS = Gravedad específica (corregida a 20°C)

PM = Picnómetro con muestra (g)

PV = Picnómetro vacío (g)

PA = Picnómetro con agua (g)

PB = Picnómetro con tratamiento blanco (g)

°p = Grados plato

H = Porcentaje de humedad

(BS) = Base seca

Anexo 4. Contenido de beta glucanos

Principio

Los beta glucanos son polímeros formados por unidades de glucosa que presentan enlaces beta-1-3 en un 30% aproximadamente y beta-1-4 en un 70%, forman parte de la pared celular del endospermo de la cebada junto con proteínas y pentosanos.

Algunos problemas de filtración son asociados con su presencia, la cual está directamente relacionada con la viscosidad. Esta determinación consiste básicamente en precipitar los beta glucanos con sulfato de amonio, hidrolizarlos en medio ácido para transformarlos en glucosa, la cual se evalúa por colorimetría.

Materiales y equipos

- Espectrofotómetro
- Centrifuga
- Erlenmeyer de 50 cm³
- Balones aforados de 100 y de 25 cm³
- Tubos para centrifuga
- Tubos con tapon esmerilado
- Pipetas aforadas de 20, 10, 2 cm³

Reactivos

- Sulfato de amonio r.a.
- Ácido sulfúrico, al 85% v/v
- Antrona, r.a.
- Solución de etanol: agua 70:30 v/v
- Solución de antrona, al 0.1% p/v en ácido sulfúrico del 85%
- Solución patrón de glucosa: se pesa 0.100 g de D-glucosa, se lleva a 100 cm³ con agua destilada. Esta solución contiene 50 mg/ dm³ de glucosa.

Procedimiento

- Se pesan 6 g de sulfato de amonio en un erlenmeyer de 50 cm³ y se adicionan 20 cm³ del mosto por analizar. Se agita hasta la disolución total del sulfato de amonio.
- Se deja en reposo durante 12 h mínimo, al cabo de las cuales se centrifugara por 30 minutos.
- Se lava el precipitado con la solución de etanol: agua para ser centrifugado durante 10 minutos eliminando así el sobrenadante, se repite el lavado tres o cuatro veces hasta obtener un precipitado blanco.
- Se disuelve el precipitado en agua y se coloca el tubo en un baño a ebullición, durante 10 minutos, se transfiere cuantitativamente a un balón aforado de 100 cm³ y se lleva a volumen con agua destilada.
- Se toma una alícuota de 20 cm³ de la solución anterior y se lleva a volumen con agua destilada en un balón aforado de 25 cm³.
- Se toma una alícuota de 3 cm³ en un tubo con tapón esmerilado y se adicionaran 10 cm³ de la solución de antrona.
- Se prepara un patrón interno de glucosa con 3 cm³ del patrón de glucosa y el blanco con 3 cm³ de agua destilada, a estos dos últimos se les adicionara 10 cm³ de solución de antrona. Es conveniente que el patrón y el blanco sean preparados por duplicado.
- Se agitaran suave y cuidadosamente.
- Los tubos se colocan en un baño a ebullición durante 20 minutos.
- Se determina la Absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 625nm, ajustado a cero con el blanco.

Cálculos

$$\text{Glucosa en mg / dm}^3 \text{ de mosto} = \frac{\text{Abs.muestra}}{\text{Abs.patron}} * C * F$$

Donde:

C = concentración de patrón mg/dm³

F = factor de dilución = 6.25

Se debe tener en cuenta que esta determinación se efectúa sobre el mosto obtenido para análisis del extracto de malta según lo indicado en la NTC 1119, en la cual se emplean 50 g de malta y 400 cm³ de agua destilada, por lo tanto la ecuación utilizada para el cálculo es:

$$\text{Glucosa en mg / 100g de malta(base seca)} = \frac{\text{mg glucosa}}{\text{dm}^3 \text{ mosto}} * \frac{A}{d * B} = \frac{\text{mg glucosa}}{\text{dm}^3 \text{ mosto}} * \frac{A}{10 * P * d}$$

Donde:

d = densidad del mosto

°P = grado plato = % de solido P/V

A = g extracto / 100 g malta (base seca)

B = g de extracto / 100 g de mosto

Notas

- El lavado del precipitado debe ser muy cuidadoso para evitar la pérdida de β-glucanos, ya sea por falta de centrifugación o por exceso de la misma (se puede aumentar la temperatura de la solución etanol/agua y favorecer la solubilización de los β-glucanos)
- Cuando se observe que no hay solubilización total del precipitado, se debe retirar el tubo del baño de ebullición y esperar a que precipite la parte insoluble, antes de transferir la solución al balón aforado de 100 cm³. El precipitado se trata nuevamente.
- El material debe estar completamente libre de azúcares, dado que la reacción es muy sensible.

Anexo 5. Determinación de viscosidad cinemática

Principio

Establecer el efecto de las enzimas sobre el mosto de cebada, sobre la viscosidad cinemática en el filtrado, para lo cual se utiliza un viscosímetro de vidrio Cannon Frenske, y de esta manera poder determinar la viscosidad.

Equipo y material

- Viscosímetro de vidrio Cannon Frenske
- Baño maria
- Vasos de precipitación
- Cronómetro
- Termómetro

Procedimiento

- Medir 25 ml de mosto de cebada en un vaso de precipitación de 50 ml
- Acondicionar los vasos por cinco a diez minutos hasta que el mosto alcance la temperatura determinada.
- Trasvasar el filtrado de la muestra (enzimada y no enzimada) por el capilar del viscosímetro de vidrio Cannon-Frenske.
- Absorber el líquido suavemente con una pera por el capilar hasta la parte superior.
- Medir el tiempo que demora en pasar el líquido desde el enrase superior al enrase inferior del capilar del viscosímetro.
- Realizar el mismo procedimiento con agua destilada para determinar la constante K del viscosímetro.

Cálculos

La viscosidad cinemática se calcula de la siguiente manera:

$$\gamma(cst) = K(cst / s) * t(s)$$
$$K = \frac{k_{Agua}}{t(s)}$$
$$Viscosidad Reducida(\%) = \gamma_0 - \gamma_t$$

Donde:

- γ = Viscosidad cinemática
- K = Constante del viscosímetro
- k = Constante de la AOAC para el agua a 30°C (0.786 cst)*
- t = Tiempo en segundos
- γ_0 = Viscosidad cinemática de la muestras no enzimada
- γ_t = Viscosidad cinemática de la muestra enzimada

Tamaño	Viscosity Range	Approx Constante	Shear Rate at wall, reciprocal seconds	
			Five Fold	Ten Fold
25	0,5 – 2 (cS)	0.002	82 – 1650	82 – 3300
50	0.8 – 4	0.004	45 – 900	45 – 1800
100	3 – 15	0.015	15 – 300	15 – 600
150	7 – 35	0.035	8 – 160	8 - 320
200	20 - 100	0.10		

Especificaciones para los viscosímetros "Canon Fenske"

Anexo 6. Determinación de fibra dietética soluble

Principio

El almidón y las proteínas son digeridos por pequeños fragmentos por medio de enzimas. La fracción de fibra dietética soluble es recuperada por filtración luego de precipitar con etanol.

Materiales y equipos

- Estufa
- Balones Kjeldahl
- P-2 filtros – crisol (40 – 60 μm porosidad)
- Celita 545. FLUKA AG, BUCHS Switzerland, artículo
- Bomba de vacío
- Desecador

Reactivos

- Solución buffer 0.1 M pH 6.0 Fosfato de Sodio
- Solución 0,2 M. HCl
- Solución 5,0 M. HCl
- Solución 1,0 M. HCl
- Solución 5,0 M. NaOH
- Solución 1,0 M. NaOH
- Etanol al 95%
- Etanol al 76%
- Acetona

Enzimas

- Pepsin 200 FIP U/g MERK, N°7190, Darmstadt, W. Germany
- Pancreatina Fluka AG N°76190 Buchs. Switzerland
- Termamyl 120 L Novo A/S, Copenhagen, Denmark

Preparación de las soluciones enzimáticas

Termamyl ya viene en solución, pero la pepsina y la pancreatina son polvos secos.

Para simplificar el trabajo, es mejor preparar las soluciones de pancreatina y pepsina y luego almacenarla en un congelador.

Se pesarán 10,0 g de enzima en polvo en un vaso de precipitación y disuélvalo en 100 ml de agua destilada. Se mezclará lentamente con agitador magnético. Las soluciones serán congeladas en porciones de 7 ml.

Procedimiento

- Se analizará por duplicado.
- Pesar 1,0 g (+/- 0,0001) de muestra seca o su equivalente de muestra húmeda homogenizada, en un vaso de precipitación o un frasco plástico.
- Adicionar 25 ml de buffer de Fosfato de sodio y 100 µl de Termamyl. Usando agitador magnético de 20 mm de longitud. Mezclar bien.
- Evitar que la muestra salpique a las paredes. Cubrir con papel aluminio y colocar los vasos en un baño de agua hirviendo para incubación por 20 minutos.
- Adicionar 20 ml de HCl 0,2 M, esperar hasta que el contenido del vaso alcance la temperatura ambiente. Ajustar el pH a 1,5 con HCl 5 M.
- Agregar 1,0 ml de solución de pepsina a cada muestra. Se incubará durante 1.0 hora a 40°C en un baño de agua, con agitación.
- Retirar las muestras del baño de incubación y se adicionará 1,0 ml de NaOH 5.0 M. Se ajustará el pH a 6,8 con NaOH 1.0 M.
- Adicionar a cada frasco 1,0 ml de solución de pancreatina.
- Las muestras se incubarán en un baño de agua por una hora a 40°C. Durante la incubación se deberá mantener una agitación lenta y continua.
- Se retirarán las muestras del baño de agua, a las mismas se adicionará 0,5 ml de HCl 5,0 M y el pH se ajustará a 4,5 con HCl 1 M.
- Añadir agua destilada hasta la marca de 100 ml del vaso, posteriormente se añadirá 400 ml de etanol al 95% precalentando a la temperatura de 60°C. Dejar precipitar por una hora.
- Colocar los crisoles y la celita que previamente serán secados en una estufa a 105°C en un desecador y dejar enfriar a temperatura ambiente.
- Pesar 0,5 g (precisión de 4 cifras decimales) de celita en cada crisol. Anotar el número del crisol, pesar el crisol y la suma del crisol más celita. Humedecer las celitas en el crisol con etanol al 76% (para evitar la pérdida de celita antes de la filtración).
- Durante la filtración, se debe cuidar que las paredes del embudo estén siempre húmedas con etanol al 76% (se evita que la fibra se adhiera a las paredes). Lavar la torta filtrada con porciones de etanol al 95% de 2 x 15 ml y acetona en porciones de 2 x 15 ml. Los crisoles se guardarán en un desecador, el contenido de uno de ellos será utilizado para análisis de nitrógeno por Kjeldahl. El otro crisol será calcinado toda la noche a 550°C para determinar el contenido de cenizas en la muestra.

La máxima desviación sugerida entre muestras paralelas, para la exactitud, corresponde a:

Muestra contenido 0-10% fibra dietética no corregida 0.5%

Muestra contenido 10-50% fibra dietética no corregida 0.85%

Muestra contenido 50% fibra dietética no corregida 1.50%

Cálculo

Cálculos para el análisis de fibra dietética:

Los siguientes cálculos son necesarios para reportar los valores de fibra dietética y se refieren a los pesos expresados en mg.

1. Fibra no corregida

$$(crisol + celita + fibra) - (crisol + celita)$$

2. % de Fibra no corregida

$$\frac{Fibra\ no\ corregida(mg)}{peso\ de\ muestra(mg)} * 100$$

3. Ceniza no corregida

$$(crisol + celita + cenizas) - (crisol + celita)$$

4. Proteína no corregida

$$\frac{Normalidad\ de\ HCl * ml\ HCl * 14.007 * 6.25}{Peso\ de\ muestra}$$

5. Ceniza corregida

$$\frac{Valor\ promedio\ (mg)\ fibra\ no\ corregida * Proteína\ no\ corregida(mg)}{Contenido\ de\ fibra\ en\ crisol\ antes\ de\ incinerarlo(mg)}$$

6. Proteína corregida

$$\frac{Valor\ promedio\ (mg)\ fibra\ no\ corregida * mg\ proteína\ no\ corregida}{Contenido\ de\ fibra\ en\ crisol\ usado\ para\ Kjeldahl(mg)}$$

7. Blanco corregido

$$(Promedio\ (mg)\ fibra\ en\ blanco) - (ceniza\ corregida + proteína\ corregida)$$

8. Fibra dietética corregida

$$(valor\ promedio(mg)\ FD\ no\ corregida) - (ceniza + proteína + blanco\ corregido)$$