



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

FACULTAD DE QUÍMICA

**“Evaluación del efecto de concentraciones de insulina y giberelina en variedades de cebada cultivadas en México, sobre los parámetros requeridos para una malta cervecera”**

**TESIS:**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICO DE ALIMENTOS**

**PRESENTA:**

**ZULMA GABRIELA SEGURA LÓPEZ**



**MÉXICO, D.F.**

**AÑO 2015**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:** Profesor: OLGA DEL CARMEN VELÁZQUEZ MADRAZO

**VOCAL:** PROFESOR: GLORIA DÍAZ RUIZ

**SECRETARIO:** PROFESOR: FRANCISCO RUIZ TERÁN

**1ER. SUPLENTE:** PROFESOR: PERLA DEYANIRA MALDONADO JIMÉNEZ

**2° SUPLENTE:** PROFESOR: OSCAR HERNÁNDEZ MELÉNDEZ

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

Éste trabajo se realizó en la Facultad de Química Edificio E. Laboratorios: 321 y 103. En el invernadero del Conjunto Edificio E, Facultad de Química-UNAM:

**ASESOR DEL TEMA:**

---

**Dr. Francisco Ruiz Terán**

**SUSTENTANTE:**

---

**Zulma Gabriela Segura López**

## ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES.....	3
2.1 Tecnología de la malta.....	3
2.2 Importancia del grano de cebada en la elaboración de la malta .....	3
2.3 Variedades más usadas de cebada en la Industria cervecera.....	6
2.4 Composición bioquímica y propiedades del grano de cebada (contenido de carbohidratos amiláceos y no amiláceos; importancia de los $\beta$ -glucanos en cebada; contenido de nitrógeno y proteínas; lípidos; otros constituyentes del grano de cebada) .....	9
2.5 Enzimas implicadas en el proceso de malteo .....	15
2.6 Bioquímica del proceso de malteo .....	19
2.7 Elaboración de malta.....	21
2.7.1 Selección y limpieza del grano.....	21
2.7.2 Parámetros de calidad de cebada maltera.....	21
2.8 Remojo.....	23
2.9 Germinación.....	24
2.10 Secado.....	26
2.11 Molienda y eliminación de raicillas .....	28
2.12 Pérdidas por malteo .....	29
2.13 Calidad microbiológica de la malta .....	29
2.14 Usos de la malta .....	31
2.15 El desarrollo de la semilla.....	33
2.16 Las sustancias de reserva .....	35
2.17 Ácido giberélico .....	35
2.18 Insulina.....	37
OBJETIVOS .....	39
3.1 Objetivo General.....	39
3.2 Objetivos particulares .....	39
3.3 Hipótesis.....	39

4. MATERIALES Y METODOS .....	40
4.1 Materia prima .....	40
4.2 Evaluación de calidad maltera en cebadas .....	40
4.2.1 Viabilidad de germinación (Porcentaje de germinación).....	40
4.2.2 Tamaño de raicillas .....	41
4.2.3 Determinación de humedad.....	42
4.3 Pruebas preliminares de lavado aséptico, remojo, germinación y secado .....	43
4.3.1 Experimentos de remojo .....	43
4.3.2 Condiciones de germinación .....	45
4.3.3 Condiciones de secado .....	46
4.4 Diseño de experimentos .....	46
4.5 Malteado de cebada .....	48
4.5.1 Selección y limpieza .....	48
4.5.2 Remojo.....	48
4.5.3 Germinación .....	48
4.5.4 Secado .....	49
4.5.5 Molienda y eliminación de raicillas .....	49
4.6 Análisis de calidad de maltas terminadas .....	49
4.6.1 Pérdidas por malteado.....	49
4.6.2 Determinación del poder diastásico de malta .....	50
4.6.3 Nitrógeno total en malta y determinación de proteínas.....	51
4.6.4 Determinación de proteína soluble por Bradford.....	52
4.7 Actividad enzimática por el método de DNS.....	52
4.8 Ácido Giberélico e Insulina .....	53
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	53
5.1 Evaluación de calidad maltera en cebadas .....	53
5.2 Pruebas preliminares de remojo, germinación y secado.....	55
5.3 Evaluación de las fases de malteado .....	58
5.4 Optimización del proceso de malteado y selección de maltas de mejor calidad.....	67

6. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS .....	75
6.1 Conclusiones.....	75
6.2 Perspectivas y recomendaciones.....	76
7. BIBLIOGRAFÍA.....	78
8. ANEXOS .....	84

### 1. INTRODUCCIÓN

La cebada junto con el trigo son los cultivos más antiguos de la humanidad. Estos cereales fueron sembrados en la rivera del Nilo en Egipto extendiéndose al medio este, (Líbano, Irán, Iraq y Turquía), así como la India y China. Se cree que la cebada fue un importante cultivo durante la edad de Bronce, debido a que se usaba para el consumo humano al incluir su harina en la elaboración de pan así como pasteles y pastas, en la actualidad continúa siendo un cultivo importante en el mundo (Mac Gregor, 1996).

La cebada (*Hordeum sativum*) es un cereal, los principales tipos de cebada que se cultivan pertenecen a las especies *Hordeum distichum* (de 2 hileras) y *Hordeum vulgare* (de 6 hileras). Desde hace 3000 años su aplicación principal es como materia prima para la producción de malta en la industria cervecera (Hornsey, 1999), sin embargo, no todas las variedades de cebada pueden ser utilizadas para elaborar malta, debido a que no se conocen las características de calidad que poseen.

Es uno de los cuatro cereales más importantes (trigo, arroz, maíz) en México se ha destacado por ser un cultivo de gran importancia económica y social, se destina para la producción de malta, como alimento para el ganado, la industria panificadora, producción de alcohol, etc. Actualmente Europa es el principal productor del mundo, seguido de Rusia, Canadá y Ucrania. México ocupa el treceavo lugar como productor y onceavo como consumidor. Los principales estados en México que abastecen de cebada son Guanajuato, Hidalgo, Estado de México, Puebla, Tlaxcala, Michoacán, Durango, San Luis Potosí y Querétaro. Destacando los estados de Hidalgo y Tlaxcala en los cuales los tipos de cebada que se cultivan pertenecen a la especie *Hordeum vulgare*; existe una amplia diversidad de variedades de cebada entre las

que se destacan Esmeralda, Alina, Esperanza, Adabella, Gaviota, Forrajera, entre otras.

La cebada se caracteriza porque su ciclo vegetativo es corto, aún cuando hay variedades precoces y tardías. Las variedades de cebada maltera desarrolladas en México se adaptan tanto a siembras de otoño-invierno con riego, como a siembras de primavera-verano bajo temporal. Requiere poca humedad entre 400 y 1300mm de agua por año, es tolerante a la salinidad ligera del suelo.

La primera fase de la producción de cerveza es el malteado, el cual se lleva a cabo mediante tres etapas principales: remojo, germinación y secado del grano; se realiza con el fin de generar enzimas encargadas de hidrolizar el almidón de la cebada para obtener azúcares y otros nutrientes, necesarios para la levadura durante la fermentación, mediante una germinación controlada de la cebada. La elaboración de la malta es una etapa trascendental, pues precisamente en este período se define si la cebada posee características ideales para ser empleada en la industria cervecera.

La calidad final de la malta depende de las propiedades fisicoquímicas del grano de cebada, así como de las condiciones de tiempo y temperatura de las fases de malteado, la calidad de la malta se evalúa mediante una serie de métodos analíticos, entre los cuales destacan la viabilidad de germinación, contenido de humedad, pérdidas por malteado, contenido de proteínas, es decir, el nitrógeno en la malta, extracto de malta, poder diastásico y el contenido de  $\beta$ -glucanos (Analytica EBC, 2003).

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Tecnología de la malta

Se le denomina malta a la cebada parcialmente germinada y seca; durante la germinación se produce una gran cantidad de enzimas activas que transforman las reservas del grano principalmente las de almidón, en compuestos requeridos durante la elaboración de cerveza (Callejo, 2002).

En la actualidad la cebada es el cereal que más se emplea para la elaboración de malta cervecera, en menor proporción el trigo y el sorgo. Cada año se producen alrededor de  $1.5 \times 10^7$  toneladas de malta a partir de cebada; alrededor de un 94% de esa cantidad es usada en la industria cervecera. La conversión de cebada en malta requiere un mínimo de 2 semanas y se somete a malteado después de 6 a 8 semanas de la cosecha del grano (Schilbach, 1999).

La malta es una materia prima necesaria para la fabricación de cerveza ya que confiere características de color, sabor y espuma por ello su elaboración es muy exigente con el control en el tiempo y temperatura, el malteado constituye toda una industria que en la mayoría de los casos es independiente de la industria cervecera. El malteado consta de varias etapas mostradas en la Figura 1.

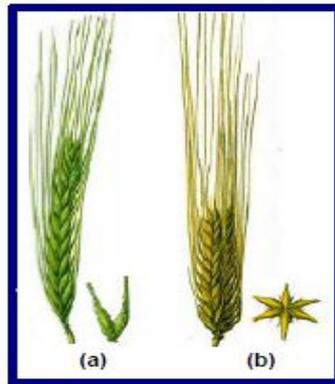
### 2.2 Importancia del grano de cebada en la elaboración de la malta

El objetivo del malteado es transformar las reservas nutritivas del grano a sustratos apropiados requeridos para la elaboración de cerveza mediante una germinación controlada.



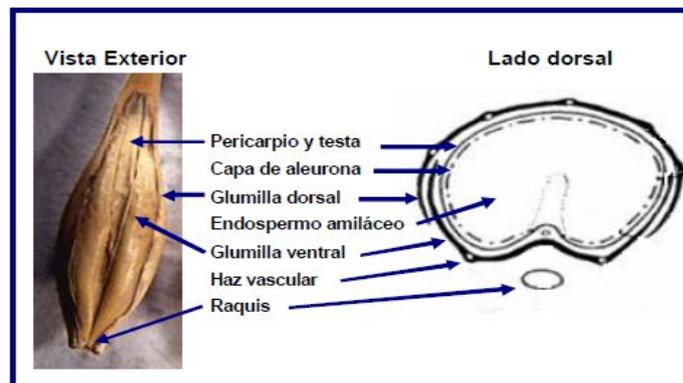
**Figura 1.** Proceso de malteado de la cebada.

Todas las cebadas cultivadas a nivel comercial se clasifican dentro del género *Hordeum*, de la familia de las Gramíneas. Las cebadas *Hordeum distichum* o dísticas (plantas que producen 2 granos en los nudos de la cabeza, es decir, que producen cabezas de 2 hileras) y *Hordeum vulgare* o hexísticas (son cebadas que producen cabezas de 6 hileras) (Figura 2). Ambas variedades de cebada se emplean para la elaboración de malta cervecera. Las variedades *H. distichum* producen granos más gruesos y uniformes, y por ello se usan en la elaboración de maltas en países de Europa, mientras que las variedades de *H. vulgare* poseen un alto potencial enzimático y son las preferidas en cervecerías de México, Canadá y Estados Unidos (Hornsey, 2003).



**Figura 2.** Especies de cebada (a) *Hordeum distichum*, (b) *Hordeum vulgare* ([http://www.cl/sw\\_educ/cutivos/cereales/cebada.htm](http://www.cl/sw_educ/cutivos/cereales/cebada.htm))

La semilla de cebada está rodeada de una capa protectora que recubre la verdadera cubierta de la semilla o testa, por tanto, posee tres capas: cáscara, pericarpio y testa, que le confieren una protección al grano destinado al malteado, durante el almacenamiento. Los fragmentos de cáscara sirven de lecho filtrante después de la maceración para separar el mosto (Figura 3).



**Figura 3.** Ubicación de los constituyentes del grano de cebada. ([www.cervezadeargentina.com.ar/articulos/maltas.htm](http://www.cervezadeargentina.com.ar/articulos/maltas.htm))

El endospermo de los granos de cebada posee hasta un 90% de carbohidratos totales, de los cuales un 80% se encuentra en forma de

gránulos de almidón que sirve de reserva nutritiva al grano. El almidón es solubilizado e hidrolizado durante el malteado hasta monosacáridos (glucosa y maltosa) gracias a la capacidad enzimática de las  $\alpha$  y  $\beta$ -amilasas que se desarrollan en la cebada durante su germinación (Briggs, 1998).

### **2.3 Variedades más usadas de cebada en la Industria cervecera**

El cultivo de la cebada es uno de los más importantes en la región de El Bajío, donde se siembran 50 mil hectáreas de riego, que aportan aproximadamente 30% de la producción nacional de cebada (SIACON, 2007), estas siembras dependen de la variedad Esperanza como la única opción tecnológica ante la presencia de la roya lineal amarilla (*Puccinia striiformis f. sp. hordei*).

Las siembras de cebada en condiciones de riego se realizan en el ciclo otoño–invierno en El Bajío, que comprende parte de los estados de Querétaro, Guanajuato, Michoacán y Jalisco. El cultivo de la cebada en invierno interviene en rotaciones con la siembra de sorgo o maíz en el ciclo de verano.

Los principales factores que limitan la producción son la escasez de agua y la incidencia de las royas; estas enfermedades tienen la propiedad de crear y generar nuevas razas fisiológicas del hongo, capaces de dañar a las variedades previamente consideradas como tolerantes.

Debido a estos problemas el programa nacional de cebada maltera del INIFAP desarrolla nuevas variedades con mayores rendimientos, buena calidad maltera y tolerantes a la roya lineal amarilla. Con la liberación de nuevas variedades de cebada ha sido posible sustituir a las variedades comerciales cuando éstas se han visto amenazadas por los

problemas de enfermedades, lo que ha evitado cuantiosas pérdidas económicas a los agricultores (Solano, 2006).

### **Variedad Esmeralda**

Es la primera variedad desarrollada para los valles altos temporaleros de México con tolerancia a roya lineal amarilla (*Puccinia striiformis f. sp. hordei*) y tolerante a escaldadura (*Rhynchosporium secalis*). Estas características le permiten prescindir de las aplicaciones preventivas de fungicidas contra este hongo y, con ello, un ahorro considerable en los costos de producción del cultivo y la consecuente contaminación del ambiente.

Además, presenta tolerancia a la mancha reticular (*Helminthosporium teres*) y a escaldadura de la hoja (*Rhynchosporium secalis*) y moderadamente tolerante a la roya de la hoja (*Puccinia hordei*) enfermedades comunes en este cultivo. La variedad "Esmeralda" no presenta problemas de susceptibilidad varietal a los herbicidas más comunes que se recomiendan para el cultivo de cebada (SAGARPA, 2012).

En el cultivo de cebada, en general, las plagas no representan un problema de importancia económica; sin embargo, la falta o exceso de agua puede provocar un ataque de pulgones. La variedad "Esmeralda" muestra moderada susceptibilidad al ataque del pulgón al ser infestada en etapa de plántula. Por todas estas características, es óptima en la elaboración de malta para la industria maltera-cervecera por el balance que guardan sus componentes químicos en grano malteado, como extracto molienda fina, diferencia de extracto molienda fina a extracto de molienda gruesa, poder diastásico (transformación a glucosa), alfa amilasa y proteína soluble a proteína total, entre otras. Especialistas del

INIFAP señalan que la industria maltera ha evaluado el grano de "Esmeralda" y lo considera apto para el proceso industrial que lo convierte en malta. Las principales áreas de producción actuales y potenciales de "Esmeralda" están en los estados de Hidalgo, Tlaxcala, Puebla y México, así como en las regiones templadas semisecas y subhúmedas con lluvias en el verano. Tiene un ciclo vegetativo intermedio de 110-115 días. Es resistente al desgrane, y se liberó en 1992 (SAGARPA, 2012).

### **Variedad Alina**

La variedad Alina es resultado de la selección de líneas segregantes de cebada, originadas de un cruzamiento doble realizado por el programa nacional de cebada maltera del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) en el Campo Experimental Bajío. Alina presenta tolerancia a las enfermedades comunes en la región y posee un alto rendimiento potencial con muy buena calidad industrial (Salomón, 2009).

Alina es una nueva variedad de cebada maltera para producción en condiciones de riego en el Bajío. Es una variedad de hábito de crecimiento de primavera, es de ciclo vegetativo precoz, la floración ocurre de 59 a 68 días y la madurez fisiológica se alcanza entre 106 a 123 días, dependiendo del ambiente y fecha de siembra, es una variedad de porte intermedio que varía 0.80 a 1.20 m, según el manejo agronómico del cultivo. Alina presentó rendimientos experimentales que variaron de 7.1 a 11.3 ton/ha y con un rendimiento promedio de grano superior en 15.0% al de la variedad comercial Esperanza.

El cruzamiento se llevó a cabo en el ciclo otoño-invierno de 1988-1989;

la generación F1 se sembró en el Campo Experimental Bajío. Las generaciones segregantes fueron alternadas en el Campo Experimental Bajío y Campo Experimental Valle de México. La cosecha en masa se realizó en la generación F7 cuando se observó uniformidad en sus características agronómicas y de calidad. Esta variedad se le asignó el número M 10457B, cuya genealogía es R89-191-11R-11C-5R-1C-8R-0R y se liberó para su cultivo comercial con el nombre de Alina en 2005. Esta fue desarrollada de acuerdo con la Ley de Producción y Certificación, Comercio de Semillas vigente en México y está inscrita en el registro nacional de variedades y plantas (RNVP), con el registro de título de obtentor 0297 con vigencia del 31 de mayo de 2006 al 31 de mayo de 2021 (INIFAP, 2006).

### **2.4 Composición bioquímica y propiedades del grano de cebada (contenido de carbohidratos amiláceos y no amiláceos; importancia de los $\beta$ -glucanos en cebada; contenido de nitrógeno y proteínas; lípidos; otros constituyentes del grano de cebada)**

El grano de cebada presenta forma oval y alargada posee 2 compartimientos especiales; el endospermo y el embrión, ambas zonas se encuentran rodeadas por dos capas externas que son la testa y el pericarpio, que le confieren una protección vital durante el almacenamiento (Callejo, 2002).

El endospermo es el lugar donde se almacena el almidón y está cubierto por la capa de aleurona; tanto las paredes del endospermo amiláceo como las que conforman la aleurona se encuentran cubiertas por polisacáridos no amiláceos tales como arabinosilanos,  $\beta$ -glucanos y en menor cantidad unidades de celulosa (MacGregor y Batty, 1996). El endospermos del grano de cebada también es rico en nitrógeno (1.4-1.8% del peso seco), el cual se encuentra en forma de proteína enzimática y de proteína de reserva.

El embrión es la parte de la semilla de la cebada que se desarrolla durante la germinación y que requiere de nutrientes como el almidón y proteínas para su crecimiento, en el embrión se promueve la formación de enzimas que potencian la degradación de estos componentes. La producción de enzimas durante la germinación inicia en el escútelos.

Los lípidos constituyen el 3-4% del peso total del grano y se encuentran localizados mayoritariamente en las células del embrión y la aleurona.

La cebada presenta la composición química media mostrada en la Tabla 1, los nutrientes mostrados se encuentran expresados en base seca, el contenido de humedad de la cebada es próximo al 14% (Callejo, 2002).

**Tabla 1.** Composición química media de la materia seca del grano de cebada (Callejo, 2002).

Nutrientes	Contenido %
Carbohidratos	70-80
Almidón	50-63
Azúcares	1.8-2.0
Celulosa y Hemicelulosa ( $\beta$ -glucanos y pentosanos)	15-20
Proteína	10.5-11.5
Lípidos	1.5-3.0
Minerales	2.0-4.0
Otros constituyentes	1.0-2.0

### Carbohidratos Amiláceos y no amiláceos

Los carbohidratos constituyen alrededor del 80% del grano de cebada, el almidón es el componente más importante, ocupando hasta un 65%, sin embargo las paredes celulares de la cebada tienen matrices de microfibrillas compuestas por polisacáridos como celulosas y

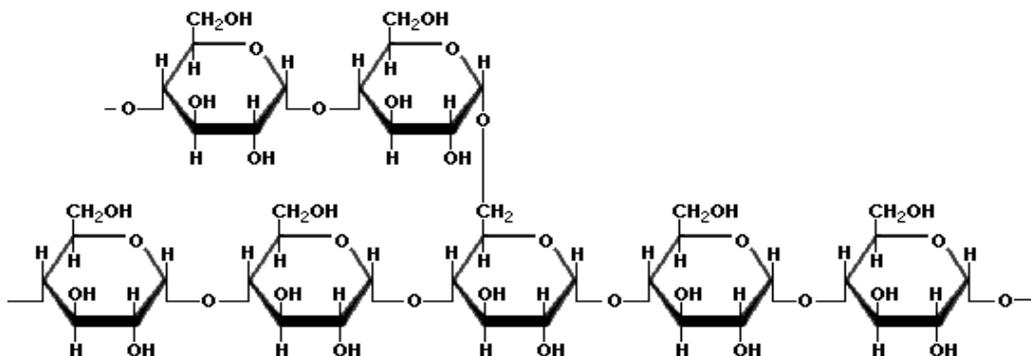
hemicelulosas y a su vez están formados por arabinoxilanos, el contenido de azúcares es mínimo, aumentando después en el proceso de malteado como resultado de la degradación enzimática del almidón y de otros polisacáridos.

### Polisacáridos amiláceos

**Almidón:** está en el endospermo de la cebada en forma de gránulos específicos que miden 20-25 $\mu\text{m}$  de diámetro y 1-5 $\mu\text{m}$  de diámetro. Todos los granos de almidón se encuentran envueltos dentro de una matriz proteica. Durante la germinación, solamente un 15% del total de almidón es hidrolizado para ser consumido por el embrión en su respiración, por lo que la ruptura total del almidón se completa en la maceración del mosto cervecero gracias a la actividad de  $\alpha$  y  $\beta$  amilasas; enzimas inducidas durante la germinación (Callejo, 2002). El almidón está compuesto por unidades de amilosa y amilopectina.

**Amilopectina:** Se trata de un polímero ramificado compuesto 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 5).

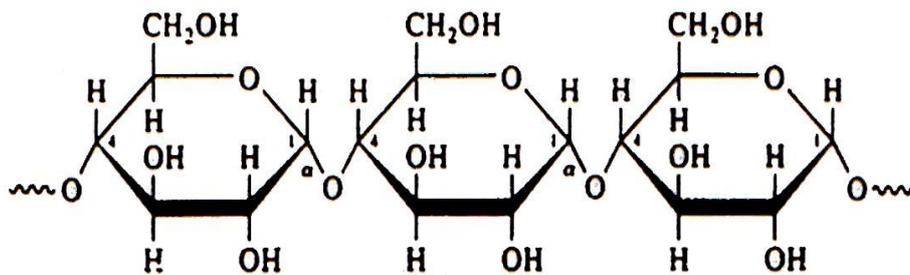
La amilopectina es alrededor del 75-80% del almidón de cebada.



**Figura 4.** Estructura química de la amilopectina

(<http://www.scientificpsychic.com/fitness/carbohidratos1.html>)

**Amilosa:** Es un polímero de cadena recta formado por unidades de D-glucosa que se unen mediante enlaces  $\alpha$  (1-4) (Figura 5). 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 (Banks y Greenwood, 1973).



**Figura 5.** Estructura química de la amilosa  
(<https://enbipol.wordpress.com>)

### Polisacáridos no amiláceos

**Celulosa:** está localizada exclusivamente en las cubiertas de las paredes celulares, actuando como sustancia estructural, este polisacárido es insoluble y no hidrolizable por las enzimas generadas durante el malteado, sin embargo, carece de influencia en la calidad de la malta.

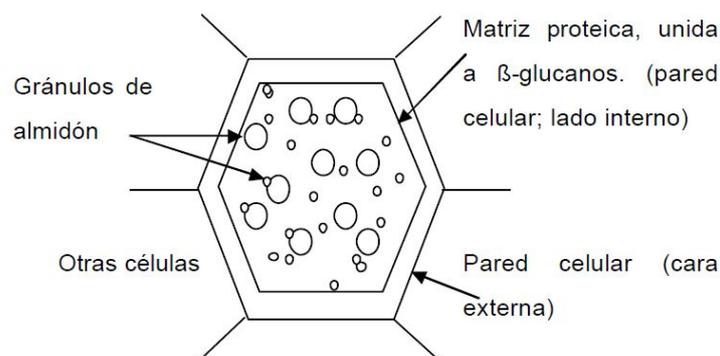
**Azúcares:** la sacarosa y la rafinosa son los azúcares principales que se encuentran en el grano de cebada, se ubican en la capa de aleurona y en el embrión, el contenido de azúcares en el grano de cebada incrementa después del malteado generándose maltosa como principal producto.

**Gomas:** Son los  $\beta$ -glucanos y pentosanos o arabinosanos que son solubles en agua caliente.

**Hemicelulosa:** se refiere al porcentaje de  $\beta$ -glucanos (80-90%) y pentosanos (10-20%) que son insolubles en agua caliente.

**Pentosanos o arabinosilanos:** son polímeros de xilosa unidos por enlaces  $\beta$  (1-4) y cadenas laterales de arabinosa unidos por enlaces  $\beta$  (1-3), que son parcialmente hidrolizados durante la germinación; estos componentes carecen de importancia en la calidad de la malta cervecera en comparación con los  $\beta$ -glucanos.

**$\beta$ -D-glucanos:** son polímeros lineales de glucosa, unidos mediante enlaces  $\beta$ (1-3) 70% y (1-4) 30%. Se encuentran en las paredes celulares del endospermo hasta 70-95% junto con otros pentosanos, otra cantidad muy chica proviene de la cascarilla. Los  $\beta$ -glucanos se encuentran estrechamente unidos a las proteínas en las paredes celulares del endospermo. En la figura 6 se representa una célula de endospermo, mostrando gránulos de almidón embebidos de una matriz proteica formada por el complejo proteína- $\beta$ -glucano y rodeados por la pared celular (*Lewis y Young, 1995*).



**Figura 6.** Célula del endospermo del grano de cebada (*Lewis y Young, 1995*).

### Contenido de nitrógeno y proteínas

La evaluación del contenido de nitrógeno en la cebada es una medida indirecta de la cantidad de proteínas presentes en dicho cereal. La mayor parte de nitrógeno de la cebada está localizado en el endospermo como proteína de reserva y proteína enzimática. Además de las proteínas, existen diversos compuestos que contienen nitrógeno en pequeñas cantidades, entre ellos figuran los ácidos nucleicos, aminos, amidas y aminoácidos libres (*Hornsey, 1999*). Las proteínas son compuestos nitrogenados de alto peso molecular y ocupan de 8 a 15% de la materia seca total del grano de cebada; existen 4 fracciones proteicas principales:

**Hordeína:** alcanza hasta un 36% de la proteína total y es soluble en etanol al 70%. Debido a que es deficiente en lisina y treonina, dos aminoácidos esenciales, no presenta un efecto de gran importancia en alimentos elaborados a partir de cebada.

**Globulina:** constituye alrededor de un 31% de la proteína total y es soluble en cloruro de sodio diluido.

**Glutelina:** es soluble en una solución de hidróxido de sodio y constituye alrededor de un 29% de la proteína total.

**Albúmina:** es una proteína soluble en agua caliente y en soluciones salinas diluidas supone alrededor del 4% del contenido total de proteína.

Todas las porciones de proteína se encuentran almacenadas en el endospermo del grano de cebada y pueden ser degradadas para proporcionar nutrientes durante la germinación. La hordeína y la glutelina son proteínas estructurales y ambas sufren una mayor degradación durante el malteado, mientras que la albúmina y la

globulina del grano de cebada representan las fuentes potenciales de  $\beta$ -amilasa y proteasas (*MacGregor et Batty, 1996*).

Altas cantidades de proteínas disminuyen el extracto potencial y provocan largos tiempos de germinación en la malta, además de aportar turbidez en cerveza terminada debida principalmente a péptidos no degradados durante la malta que se unen a los componentes que confieren amargor a la cerveza tales como los isoácidos (*Callejo, 2002; Huges, 1999; Huges et Wilde, 1997*)

Al contrario, bajas cantidades de proteínas causan fermentación lenta, y deficiencia de aminoácidos disponibles para la levadura durante la fase de fermentación y en producto terminado originan inestabilidad en la espuma. El contenido de proteína en cebada es de 9.05 a 10.9% (*Analytica EBC, 2003*)

### 2.5 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 y  $\beta$ -amilasas, dextrinasas, proteasas y  $\beta$ -glucanasa (*Hornsey, 2003*).

**Amilasas:** son enzimas  $\alpha$  y  $\beta$ -amilasas encargadas de la degradación del almidón a dextrinas, y éstas últimas son sustancias químicas intermedias entre el almidón y monosacáridos y azúcares sencillos, la actividad combinada de estas enzimas es conocida como poder diastásico (PD). Para la elaboración de cerveza se requieren de altos niveles de PD para obtener una conversión adecuada del almidón. La cebada sin maltear tiene cantidades considerables de  $\beta$ -amilasa latente, en forma insoluble como soluble, esta enzima se solubiliza completamente durante el malteado; mientras que la  $\alpha$ -amilasa esta

ausente en la cebada y se desarrolla en las primeras fases de malteado, es decir, en el remojo y germinación.

La  $\beta$ -amilasa tiene una actividad dextrinógena, es decir, genera más cantidades de dextrinas, en tanto que la  $\alpha$ -amilasa tiene una acción sacarogénica, que 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, pentosanas y dextrinasas limite:** Son enzimas encargadas de acelerar la degradación de proteínas y pentosanas respectivamente, estas enzimas al igual que la  $\alpha$ -amilasa también se generan durante el malteado gracias a la actividad del ácido giberélico, una hormona vegetal natural.

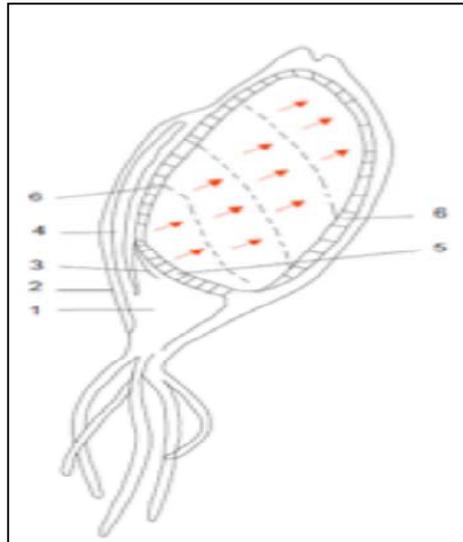
**$\beta$ -D-glucanasa ( $\beta$ -glucanasa):** se trata de una enzima con peso molecular cercano a 20000 unidades, se activa durante el malteado después de la formación de la  $\alpha$ -amilasa en el embrión de cebada (aleurona y escutelo) y está implicada en la degradación de  $\beta$ -glucanos. La presencia de esta enzima en concentraciones elevadas se traduce directamente a una mejor calidad de la malta; debido a que reduce la viscosidad del mosto y la filtración es más rápida, también se utiliza con el propósito de clarificar la cerveza (*Hornsey, 2003*).

La capacidad y cantidad enzimática de la  $\beta$ -glucanasa presente en la cebada dependen principalmente de las propiedades genéticas de la variedad utilizada. Muestra su mayor actividad en los días finales de malteado, posteriormente, durante la maceración, dicha enzima se vuelve a activar para desdoblar restos de  $\beta$ -glucanos, inactivándose a 60°C (*Muller, 1995*).

**Lipasa:** 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. Además de la lipasa, en la cebada existen pequeñas cantidades de fosfolipasas responsable de la ruptura de lípidos polares como los fosfolípidos, glicerofosfolípidos y esteroides.

### **Lípidos**

Constituyen del 3-4% de la masa total de la cebada, se trata principalmente de triacilgliceroles y ácidos grasos libres (básicamente ácidos palmítico, oléico y linoléico), que conforman el 27% al 30% del total de las grasas y se encuentran en el embrión y en la capa de la aleurona, la cebada también posee lípidos polares en proporciones menores (14 al 19% del total) como esteroides y fosfolípidos. Altas cantidades de lípidos en la malta aportan turbidez en cerveza, sabores rancios en malta, mosto y cerveza provocados por la oxidación de lípidos, la desestabilización de la espuma de la cerveza.



**Figura 7.** Formación de enzimas en el grano de cebada en el proceso de germinación. (1) embrión, (2) Cáscara, (3) acrospira inicial, (4) acrospira, (5) capa epitelial y (6) capa de aleurona ([http://siproduce.sifupro.org.mx/seguimiento/archivero/15/2013/anuales/anu\\_39-6-2014-05](http://siproduce.sifupro.org.mx/seguimiento/archivero/15/2013/anuales/anu_39-6-2014-05))

La formación de la mayoría de las enzimas se lleva a cabo de manera paralela con la respiración. Un producto bien aireado en la germinación desarrolla más enzimas.

### **Otros constituyentes del grano de cebada**

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

**Vitaminas y minerales:** en la capa de aleurona están ciertos minerales como  $K^+$ ,  $PO_4^{3-}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Na^+$  y  $Cl^-$ , la cebada posee vitaminas del grupo B; elementos vitales para la fermentación, las vitaminas se distribuyen en el embrión y la capa de aleurona (Hornsey, 2003).

### 2.6 Bioquímica del proceso de malteo

El endospermo amiláceo de la cebada se encuentra formado por células incapaces de sintetizar enzimas. Tales células consisten en una pared de proteínas que envuelve a los gránulos de almidón. En el proceso de malteado, en el embrión se desencadena un potente sistema enzimático que se transporta al endospermo y que es capaz de hidrolizar el almidón presente, la degradación de almidón se ve facilitada por la solubilización parcial de las proteínas, así como la degradación de  $\beta$ -glucanos. Los procesos bioquímicos durante el malteado incluyen reacciones que implican citólisis, proteólisis, y amilólisis, tales reacciones se describen a continuación (Callejo, 2002; Hornsey, 2003).

1. Durante el remojo, comienza la entrada de agua hacia el interior del grano, en general por el embrión.
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.
3. En el embrión ocurre una producción de ácido giberélico y giberelinas que se difunden hacia el endospermo. Una vez en el endospermo, el ácido giberélico se propaga hacia el escútelo 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); se forman enzimas:  $\alpha$ -amilasa, endo  $\beta$ -glucanasas, pentosanas, endoproteasas y dextrinasas. Después de 2 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. Por lo que los granos que presenten daños en la parte del embrión son incapaces de producir giberelinas, y se debe

omitir su uso para la elaboración de maltas cerveceras (MacGregor y Batty, 1996).

4. Luego se hidroliza aproximadamente un 10% de almidón y el contenido de amilosa se eleva desde un 22% en cebada hasta 26% en la malta.

5. Después, se comienzan a degradar los  $\beta$ -glucanos y arabinosilanos que se encuentran en la pared celular del endospermo, con ello se consigue la exposición de las partes proteicas que protegen a los gránulos de almidón.

6. Las proteínas son degradadas parcialmente por las proteasas y peptidasas, liberando nitrógeno amino 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 del embrión sino que asegura la producción eficiente de enzimas durante todo el proceso de germinación. Los péptidos y el FAN obtenidos con la proteólisis también son requeridos para el crecimiento de las levaduras durante la fermentación, por ello, una insuficiente degradación de proteínas provoca extractos pobres de malta (*Taylor, 1991*).

7. Finalmente el resto de almidón es degradado hasta la obtención de azúcares principalmente maltosa y glucosa, nutriendo el embrión para la posterior formación de raicillas en el grano.

8. Después de la hidrólisis del almidón ocurre la formación de aminoácidos y azúcares durante la respiración, los cuales se manifiestan con la formación de raicillas y acrospira.

### 2.7 Elaboración de malta

#### 2.7.1 Selección y limpieza del grano

Es una actividad cualitativa que se realiza en base a propiedades organolépticas de la cebada y consiste en comprobar si el grano posee un tamaño uniforme, si se encuentra libre de materias extrañas tales como otras semillas, si contiene granos rotos, heces de roedores, piedras, etc.

La limpieza de la cebada consiste en eliminar cualquier sustancia ajena a la misma, así como los granos dañados, inmaduros, chupados o verdes que pudiesen existir (NMX-FF043-SCFI-2003). Otros parámetros de gran importancia son el tamaño, el olor, y el color del grano, la cebada con carga microbiana muy alta emite un olor característico que se detecta con facilidad.

Posteriormente se efectúan pruebas de laboratorio entre ellas la determinación de humedad, la viabilidad de germinación y el contenido proximal de la cebada (Callejo, 2002).

#### 2.7.2 Parámetros de calidad de cebada maltera

En México, los parámetros de calidad para la cebada maltera se encuentran establecidos en la NMX-FF-043-SCFI-2003, en dicha norma se hace referencia a propiedades fisicoquímicas de la cebada, las cuales se encuentran en la Tabla 2.

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

Parámetro	Especificaciones
Humedad	Entre 11.5 y 13.5%
Grano de tamaño para uso maltero	Contenido mínimo de 85% del total de la muestra
Granos quebrados	Máximo 5.0%
Impurezas	Máximo 2.0%
Granos dañados	Máximo 10%
Germinación mínima	Mínimo 85%

## Antecedentes

<b>Mezcla de otras variedades</b>	Máximo 10%
<b>Peso hectolítrico</b>	56Kg/HL (cebadas de dos hileras) 58Kg/HL (cebadas de seis hileras)
<b>Olor</b>	Característico del grano, sin olores extraños
<b>Residuos tóxicos</b>	Sin residuos
<b>Contaminantes o toxinas</b>	Sin contaminación evidente

Además de las propiedades fisicoquímicas, la cebada considerada como maltera debe cumplir con otros parámetros específicos de calidad; tales como nitrógeno (1.5 a 2.1%), proteínas (8.3 a 12.3%) y  $\beta$ -glucanos (31%) (Analytica EBC, 2003).

Se requiere que las cebadas destinadas al malteado no posean altas cantidades de lípidos, (3-4% del peso seco total del grano), debido a consecuencias como la oxidación de grasas y turbidez en cerveza y mosto. La cantidad de carbohidratos (azúcares y almidón) debe ser alta para asegurar fermentaciones eficientes durante la elaboración de cerveza.

Anderson et al. 2000; Callejo, 2002; Hornsey, 1999 indican que el uso de granos de calidad adecuada son de gran importancia durante el malteado (Tabla 3).

**Tabla 3.** Características de calidad maltera en cebada

Característica	Beneficios a la malta
<b>Granos gordos, de superficie lisa y sin partir, con cascarilla fina y de color amarillo claro.</b>	Asegura un malteado homogéneo
<b>Granos sanos, sin daños físicos, con contaminaciones mínimas, ausencia de insectos, piedras, etc.</b>	Evita problemas durante la elaboración de la malta y maximiza el rendimiento del grano de cebada
<b>El endospermo del grano debe ser blanco y harinoso con un aspecto brillante</b>	Habrà un mayor rendimiento de la malta
<b>Granos de cebada con adecuada capacidad de hidratación</b>	Acelera el proceso de malteado
<b>Capacidad de desarrollar los complejos enzimáticos requeridos</b>	Las enzimas son necesarias para el malteado

### **2.8 Remojo**

Es un punto crítico del malteado debido a que el remojo depende en gran medida la capacidad de germinación del grano, el cual consiste en suministrar agua al interior del grano con el objetivo primordial de incrementar su humedad hasta 40-45% (Analytica EBC, 2003).

Durante el remojo, la absorción de agua al interior del grano es rápida, aunque después desciende gradualmente; el embrión toma rápidamente agua, en cambio el endospermo sufre una hidratación más lenta. Los gránulos de almidón, los pequeños tienen mayor capacidad de absorción de agua (alrededor de un 33%) mientras que la penetración de agua en los gránulos de mayor tamaño es más lenta. La capacidad de hidratación de la cebada depende de la variedad, del tamaño del grano, de la cantidad de la muestra a remojar, de la temperatura y tiempo de remojo. Conforme avanza el tiempo de remojo, la semilla de cebada incrementa su tamaño hasta un 25% y ocurre un ablandamiento de las células, así como la activación de enzimas presentes en la cebada para iniciar el proceso de germinación.

El remojo consta de dos fases importantes: los períodos de inmersión, es decir, el suministro constante de agua y los períodos de oxigenación que es el 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. 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, se convierten en dióxido de carbono y alcohol y a medida que el alcohol incrementa concentración, se vuelve tóxico para el grano, mientras que un exceso de dióxido de carbono inhibe la formación de enzimas.

Para el final del remojo el agua usada sufre una coloración debido a que la cebada puede contener materiales solubles que alteran el proceso de malteado, por ello es indispensable cambiar el agua de remojo al menos una vez durante todo el malteado. Al final de la etapa de remojo, el agua usada se elimina y se continúa con la germinación.

Se recomienda realizar el remojo a temperaturas próximas a 16°C con una duración total de 2 a 3 días.

### **2.9 Germinación**

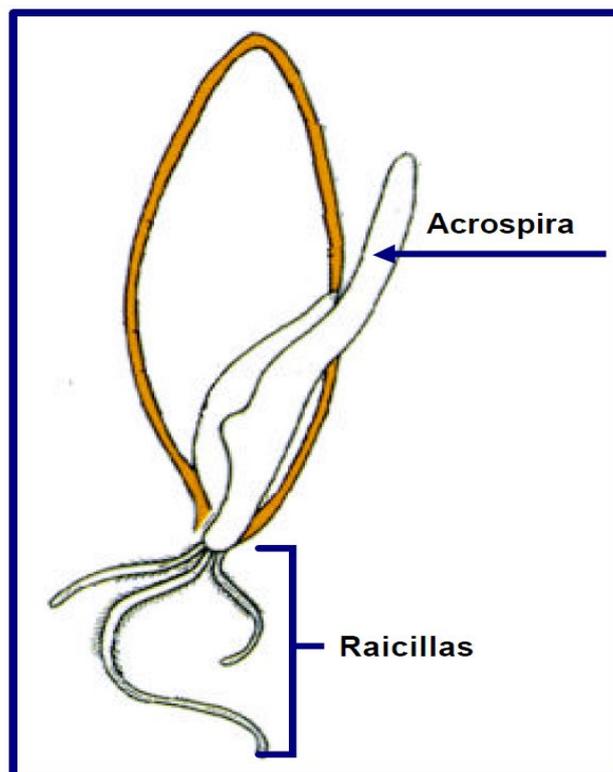
Es un proceso controlado cuyo objetivo es generar nutrientes, principalmente azúcares y aminoácidos mediante la modificación del endospermo, la cual ocurre por el desarrollo, distribución y acción de enzimas ( $\alpha$  y  $\beta$ -amilasas, proteasas, arabinosidas, y  $\beta$ -glucanasas), los compuestos obtenidos en la germinación serán utilizados por la levadura durante la elaboración de cerveza. La germinación del grano es controlada mediante la estabilización de la humedad de la muestra (42%) con suministro de oxígeno, la eliminación del dióxido de carbono y la eliminación del exceso de calor generado por la respiración de la semilla (Bewley, 1997; Hough, 1990).

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 las enzimas hidrolíticas y las características estructurales del almidón a la degradación.

La actividad enzimática se manifiesta por la aparición externa de raicillas en un extremo y el avance por debajo de la cáscara de la acospira o cotiledón. 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, 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 (1.5 veces la longitud del grano), mientras que las maltas con grados mayores de desagregación son utilizadas para elaborar cervezas oscuras con raicillas de hasta 2 veces la longitud del grano, mientras que la acrospira debe alcanzar  $\frac{2}{3}$  de la longitud del grano (Figura 7) (Callejo, 2002).

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.



**Figura 8.** Esquema de raicillas y acrospira en la germinación (Callejo, 2002).

### 2.10 Secado

Consiste en la aplicación de calor a la cebada después de que ha culminado la fase de germinación con el objetivo de detener la degradación del almidón y reducir la humedad hasta 2-5%, con ello se logra mantener la estabilidad de la malta durante el período de almacenamiento. Con el secado de la malta también se pretende detener la actividad enzimática desencadenada durante la germinación sin destruir las enzimas e introducir las características finales de color y sabor.

Este proceso se caracteriza por manejar 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 altas temperaturas. El secado es un proceso que requiere de un control riguroso, se inicia a bajas temperaturas (35-50°C), las cuales se van incrementando hasta llegar a temperaturas próximas a 75°C para la elaboración de maltas claras y temperaturas próximas a los 100°C para la obtención de maltas oscuras. Sin embargo, también existen procesos de secado a temperatura constante, como es el caso de la malta caramelo.

Las condiciones de secado son muy variadas y dependen en gran medida de las características finales que se le quiere dar a la malta. El uso de temperaturas próximas a los 100°C se conoce como "curado" y se aplica a maltas oscuras destinadas para la elaboración de cervezas tipo ale. Al final de la fase de secado las enzimas termolábiles como las proteasas y las  $\beta$ -glucanasas se encuentran desnaturalizadas y el resto de las enzimas remanentes se encuentran coaguladas. La coagulación de las enzimas es de gran importancia para obtener cervezas no turbias.

El secado puede durar entre 16 y 60 horas, dependiendo del tipo de malta a producir (Hornsey, 2003).

El cambio principal que se manifiesta durante el secado es el oscurecimiento de la malta debido a reacciones de Maillard. La reacción entre los 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 80°C. En maltas oscuras se debe introducir la formación de estos compuestos, mientras que en las maltas claras las condiciones de tostado han de ser más suaves para evitar su síntesis. En el proceso de secado se debe evitar que la malta sea sometida a muy altas temperaturas, debido a la producción de N-nitrosoaminas, las cuales pueden resultar carcinogénicas, por lo cual debe disminuirse y/o evitarse su formación (Callejo, 2002).

El secado de la malta se divide en tres etapas:

1. Eliminación del agua libre. La humedad de la muestra disminuye aproximadamente desde 42% hasta 23%, el agua se elimina con facilidad.
2. Estado intermedio. La humedad se reduce hasta 12%. Después de esta etapa, se ha minimizado la actividad enzimática, la temperatura de secado hasta la fase intermedia no debe superar los 50°C y normalmente ocurre entre las 12 y 24 horas de tratamiento.
3. Eliminación de agua ligada. Ocurre una disminución de humedad desde 12 hasta 6%.
4. Curado de la malta o golpe de fuego. Reducción de humedad hasta 2-5%, con el curado se eliminan sabores a malta verde. Después de estas

dos últimas etapas, la temperatura del aire se encuentra entre 50 y 90°C.

El secado de la malta se realiza en contenedores verticales con calentamiento indirecto y condiciones de recirculación de aire, industrialmente se realiza en un horno con control de humedad y temperatura, y a nivel experimental se hace en hornos de secado con recirculación de aire caliente y control de temperatura. La malta seca debe almacenarse a temperaturas bajas entre 4-5°C para mantener constante la humedad obtenida, además de evitar contaminación de la misma sobre todo de tipo microbiológica (Callejo, 2002).

### **2.11 Molienda y eliminación de raicillas**

Se desecha la mayor parte de raicillas formadas durante el malteado 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 eliminan por abrasión de la muestra, por agitación y por métodos de tamizado. 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. 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 acción enzimática de la malta, obteniendo velocidades de conversión lentas e incompletas (Hornsey, 2003).

### **2.12 Pérdidas por malteo**

Durante la elaboración de la malta existe una pérdida de peso que normalmente oscila entre el 7-10%, las pérdidas se deben principalmente a 3 razones:

1. Respiratorias. Representan hasta un 4-5%, se trata de las pérdidas de material que ocurren durante la germinación.
2. Peso de las raicillas. Aproximadamente un 3-4%.
3. Durante el remojo. Pueden ser desde 1% hasta un 1.5%.

Las pérdidas por malteo no deben pasar el 20-25% del total de la materia (Pelembre, 2002).

### **2.13 Calidad microbiológica de la malta**

Desde el momento de la formación de la espiga, hasta la llegada al proceso, los granos de los cereales son contaminados naturalmente por numerosos microorganismos, esta biota microbiana es diversa y está compuesta por bacterias, levaduras y hongos. Además de la microbiota aportada en el campo, las operaciones de manipulación y eventualmente las condiciones de secado originan contaminaciones secundarias incrementando la contaminación del grano. En la mayoría de los casos los microorganismos presentes en los cereales representa un riesgo potencial; ya que hongos y bacterias se desarrollan a expensas del grano, y producen agua debido a su actividad metabólica, además incrementan la temperatura de la muestra originando la presencia de olores y sabores desagradables y en el caso de algunos hongos pueden producir micotoxinas (Callejo, 2002).

Las micotoxinas formadas pueden ser termostables y tolerantes a fenómenos de oxidación, por lo que representan un gran problema en el

campo de la alimentación debido a que su periodo de vida en el alimento es más amplio que el del hongo sintetizador. De forma general, la síntesis de micotoxinas en la cebada suele ocurrir cuando las condiciones de hidratación son adecuadas para el crecimiento fúngico, además todas las micotoxinas suelen encontrarse en semillas alteradas. Los granos que están dañados mecánicamente se encuentran mucho más sujetos a alteraciones microbianas, sobre todo aquellos que presentan rupturas en la zona del germen, debido a que los mohos crecen favorablemente en dicha sección.

En cebada y malta, suele haber altas concentraciones de los géneros *Alternaria* y *Fusarium*, los cuales provocan pérdidas en el rendimiento y calidad de la malta. Durante la elaboración de malta, se favorecen las condiciones como son: alta humedad, temperatura adecuada y la misma germinación de la semilla para el crecimiento de los hongos y los principales son los del género *Fusarium*, los cuales disminuyen la calidad del mosto y la malta debido a la producción de altas cantidades de nitrógeno, y problemas de viscosidad y decoloración en el mosto, así como sabores indeseables en la cerveza.

Otro problema causado por los mohos es el incremento en la degradación de las células del grano de cebada debido a reacciones de proteólisis y amilólisis provocadas por enzimas fúngicas (Schwarz, 2001).

Una alternativa para combatir la contaminación por los hongos es el uso de cultivos de bacterias ácido lácticas que producen compuestos tóxicos para los mohos, sin afectar la calidad de la malta. Este tipo de cultivos también restringen el crecimiento de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, las cuales compiten con los granos de cebada por la utilización del oxígeno presente en la muestra (Doran y Briggs, 1993).

### **2.14 Usos de la malta**

#### Producción de cerveza

Es un proceso complejo que se lleva a cabo mediante los siguientes pasos principales:

- a) Integración de la malta. La malta es la fuente de sustratos necesarios para la fermentación, ésta se adiciona molida y se mezcla con agua para la producción del mosto.
- b) Maceración. Consiste en mezclar uno o varios tipos de malta con agua, con el objetivo principal de solubilizar la mayor cantidad de materias hidrosolubles de la malta y granos crudos que serán el sustrato de la levadura, esta extracción se logra mediante hidrólisis enzimática. La actividad enzimática que se detuvo en la etapa de secado de la malta se activa de nueva cuenta en esta etapa mediante condiciones específicas de tiempo y temperatura. El rendimiento del macerado está determinado por: la calidad de la malta utilizada, composición del agua usada, proporción agua/molienda, pH del macerado, temperaturas de maceración (61-72°C). La maceración finaliza con una separación por filtración de los compuestos sólidos y se recupera de la fase líquida.
- c) Ebullición o cocción del mosto. Consiste en llevar a ebullición el extracto obtenido durante la maceración junto con el lúpulo durante un lapso de tiempo que oscila entre 30 y 60 minutos. En esta etapa se estabiliza el mosto con la inactivación de las enzimas, la esterilización del mosto y la coagulación de compuestos proteicos, la concentración del mosto, la modificación del sabor y desarrollo del color. El color y sabor del mosto ocurre gracias a la destilación de productos volátiles, extracción de sustancias amargas del lúpulo y la producción de color por caramelización de azúcares así como la formación de otros

productos como las melanoidinas. Aquí se deben controlar aspectos tales como la agitación, tiempo, presión, pH y la temperatura de cocción.

- d) Enfriamiento del mosto. Se lleva a temperatura de 60°C o por debajo de está, el mosto comienza a enturbiarse, es decir, la materia desintegrada en pequeñas partículas que precipitan con gran dificultad; el cual puede disminuir la capacidad de fermentación de las levaduras a causa de que estas partículas pueden adherirse a burbujas de aire o incluso a las mismas levaduras.
- e) Fermentación. Es la transformación del mosto en cerveza mediante la conversión de los azúcares hasta compuestos como etanol y dióxido de carbono por las enzimas de la levadura. En la primera parte de la fermentación la cerveza adquiere textura, sabor, y está determinada por la dosis de levadura adicionada al mosto, la viabilidad de la levadura, la aireación del mosto y la presión que se encuentra dentro del tanque de fermentación. Para la segunda parte de la fermentación se le conoce como maduración o guarda, se entiende por guarda a las transformaciones que tienen lugar entre el final de la fermentación y la filtración previa al envasado. Con la maduración se consigue la clarificación de la cerveza que se realiza por decantación de materias como complejos tanino-proteínas y levaduras muertas. Ocurre también la formación de diversos compuestos responsables del sabor y aroma típicos de la cerveza.
- f) Operaciones finales. Como son la filtración, el embotellado y la pasteurización de la cerveza. Durante la filtración se eliminan todos los microorganismos y partículas coloidales que se encuentran en la cerveza al finalizar la guarda. Con la

pasteurización se detienen todos los procesos enzimáticos de la cerveza, y se produce la muerte de las levaduras que no fueron retenidas durante el filtrado. (Linko et al, 1998).

### Otros usos de la malta

Además del uso como materia prima para la elaboración de cerveza, la malta también puede ser destinada para la elaboración de otras bebidas tales como el whisky y vodka, los cuales se elaboran a partir de mezclas de malta junto con otros cereales como el maíz, sorgo, arroz y trigo.

También puede destinarse la malta para la elaboración de vinagre, esta malta usada debe poseer alto poder diastásico para asegurar la conversión de los azúcares hasta ácido acético mediante la actividad de la bacteria ácido acética *Acetobacter aceti*.

Otras aplicaciones que se les puede dar a las maltas oscuras es para la extracción de componentes que se emplean como adjuntos para el café y en algunos casos para la elaboración de pan (MacGregory y Batty, 1996).

### **2.15 El desarrollo de la semilla**

El desarrollo de las semillas puede dividirse en tres grandes fases:

1ª - todas las estructuras y tejidos del embrión se forman como resultado de la división y diferenciación celular.

2ª - la semilla crece y se activa el programa de síntesis de reserva. Las sustancias de reserva reemplazan el agua en las vacuolas de las células, reduciendo el contenido de agua hasta en un 40-50%.

3ª - durante la maduración, la semilla se seca, y sintetiza azúcares y proteínas que se unen a moléculas de agua de modo de proteger a las células de la desecación final. El metabolismo de la semilla se detiene y le permite permanecer por largos periodos de tiempo en estado seco. La maduración y pérdida de agua son procesos esenciales en la mayoría de los cultivos, que permite cosecharlos y almacenarlos.

El desarrollo de las semillas termina cuando finaliza el secado, y la planta germina. Cuando la semilla seca incorpora agua, su metabolismo se activa y se suceden la germinación y desarrollo de la plántula. En muchas plantas salvajes, el proceso de maduración es acompañado por dormancia, es decir que la semilla retrasa la germinación hasta que las condiciones ambientales son apropiadas para la supervivencia de las plántulas. Esto regula la germinación y la distribuye a lo largo de años, reduciendo la competencia a través de generaciones.

En los cultivos agronómicos la dormancia es un carácter no deseable porque hace que la germinación sea impredecible, impactando sobre el rendimiento. Cuando el hombre inició la selección de cultivos, lo hizo eligiendo aquellas semillas que germinaban rápidamente luego de la estación lluviosa y que crecían durante la estación seca. Esto llevó a una fuerte selección en detrimento del carácter de dormancia. Es por ello que la mayoría de cultivos agronómicos no presentan dormancia. Sin embargo, una pequeña cantidad de dormancia es deseable en algunos cultivos. Esto es porque si llueve antes de la cosecha, los granos de cereales como trigo, cebada, entre otros que crecen en climas templados, estarían listos para germinar mientras están unidos a la planta madre, lo que resulta en una disminución de la calidad del grano causando pérdidas a los productores. En estos casos la dormancia se pierde luego de la desecación, cuando las semillas están por ser sembradas (FAO, 2012).

### **2.16 Las sustancias de reserva**

Las sustancias de reserva que nutren al embrión vegetal están contenidas en la misma semilla, en órganos embrionarios como los cotiledones, o en tejidos extraembrionarios, principalmente el endospermo.

Al iniciarse la germinación de las semillas, y cuando las células están suficientemente hidratadas, se produce una activación de la síntesis de proteínas y, por lo tanto, la formación de enzimas hidrolíticas que son las que promueven la digestión de las sustancias de reserva para ser utilizadas durante el crecimiento de la plántula. Las reservas almacenadas ayudan al crecimiento de la plántula hasta que asoma al exterior, y la planta puede captar la energía lumínica y nutrirse mediante la fotosíntesis.

Las semillas son una fuente concentrada de carbohidratos, proteínas, y grasas y una fuente significativa de minerales, vitaminas y fibras. Los cereales son la principal fuente de alimento, seguidos por las leguminosas y las oleaginosas. Entre los cereales importantes se encuentran el trigo, maíz, arroz, sorgo, avena, cebada, centeno.

En la semilla madura de los cereales, un 75% del peso seco corresponde al almidón presente en el endospermo y un 12% a proteínas, mientras que el aceite depositado en el escutelo constituye menos del 5% (Moreno, 1984).

### **2.17 Ácido giberélico**

El Ácido giberélico  $GA_3$  fue la primera de hormonas vegetales en ser descubierta. Las giberelinas son sintetizadas en muchas partes de la

planta, pero más especialmente en áreas de crecimiento activo como los embriones o tejidos meristemáticos, los primordios apicales de las hojas, en puntas de las raíces y en semillas en desarrollo. Su principal función es incrementar la tasa de división celular (mitosis). Además de ser encontradas en el floema, las giberelinas también han sido aisladas de exudados del xilema, lo que sugiere un movimiento más generalmente bidireccional de la molécula en la planta.

Se han identificado cerca de 112 giberelinas diferentes y se denominan sucesivamente GA<sub>1</sub>, GA<sub>2</sub>, GA<sub>3</sub>, etc. El GA<sub>3</sub> es el único de uso comercial y se conoce como ácido giberélico. Las giberelinas actúan fundamentalmente sobre el RNA desinhibiendo genes. Esta acción está bien caracterizada con respecto a dos genes que en ausencia de giberelina están reprimidos: α-amilasa y los genes para el alargamiento normal de los entrenudos del tallo. Existe un receptor para la giberelina en la capa de aleurona de la semilla. El GA<sub>3</sub> induce la síntesis de α-amilasa, que es la enzima que toma parte en la desintegración de las reservas de almidón durante la germinación de las semillas. Debido a esta función, es bien conocido su uso como promotor o inductor de la germinación en diversos tipos de plantas.

Durante la germinación el embrión libera giberelinas que aumentan la elongación celular, haciendo posible que las raíces puedan atravesar las cubiertas de las semillas. Las giberelinas son sintetizadas por el coleoptilo y el escutelo del embrión y liberadas en el endospermo; las giberelinas difunden hacia la capa de aleurona; las células de la capa de aleurona son inducidas a sintetizar y segregar enzimas (amilasas y otras hidrolasas) en el endospermo amiláceo. El almidón y otros polímeros son degradados a pequeñas moléculas; los solutos liberados (monómeros) son transportados hacia el embrión donde son absorbidos y utilizados para el desarrollo del embrión

([http://www.ecologia.unam.mx/laboratorios/dinamica\\_de\\_poblaciones/cacsucmex/cactaceas2007\\_2arti\\_2.pdf](http://www.ecologia.unam.mx/laboratorios/dinamica_de_poblaciones/cacsucmex/cactaceas2007_2arti_2.pdf)).

El ácido giberélico aumenta el color en la malta es una hormona de regulación y crecimiento que promueve el crecimiento de plúmula y raicillas. A nivel industrial se adiciona en una concentración que va de 0.3-0.1ppm, es producido por el hongo *Gibberella fujikuroi*.

Las giberelinas incrementan la división celular, debido a que tras la aplicación de giberelinas se incrementa el número de células y la longitud de las mismas. La aplicación de ácido giberélico (AG<sub>3</sub>) puede inducir el crecimiento a través de una alteración de la distribución de calcio en los tejidos (Bidwell, 1990).

### **2.18 Insulina**

La insulina es una hormona humana proteica segregada por el páncreas en respuesta a niveles elevados de glucosa en la sangre. Cuando esta hormona se libera, la proteína se une a su receptor el cual se encuentra localizado en la superficie celular de hepatocitos, adipocitos y células musculares. La insulina está involucrada principalmente en la regulación del metabolismo energético, pero también ha mostrado efectos mitogénicos. Por otro lado, la insulina y algunos factores de crecimiento similares a la insulina (IGFs) en mamíferos, son hasta ahora los efectores mejor caracterizados que participan en la regulación de la síntesis de proteínas a través de mecanismos de transducción de señales involucrados en el crecimiento celular. En plantas, se ha reportado que algunos de los componentes de la ruta de señalización descrita en mamíferos son inducidos por la insulina.

De acuerdo a los resultados de una investigación en maíz se encontró que la insulina adicionada a las semillas induce y acelera la germinación, ya que contiene un factor proteico de crecimiento (IFG), el cual es reconocido por anticuerpos contra insulina. Dichos reportes han demostrado que este factor es el responsable del crecimiento en organismos eucariontes animales.

Las investigaciones realizadas en cebada *Hordeum vulgare* tienen su origen en experimentos realizados en el maíz por medio del aislamiento del péptido ZmIGF en *Zea mays*, (peso molecular de 5.7kDa) que fue capaz de regular el crecimiento y la división celular en tejidos de maíz. ZmIGF posee una estructura bien definida de hélice alfa similar a la reportada para la insulina y el factor de crecimiento parecido a la insulina (IGF-1), lo que sugiere que las plantas contienen hormonas peptídicas altamente conservadas a través del proceso evolutivo. Sin embargo, no se encuentra una secuencia nucleotídica conservada en la base de datos que corresponda al gen de ZmIGF (Rodríguez-López, 2011).

Los receptores para la insulina y para los factores de crecimiento semejantes a insulina (IGFs) son miembros de una superfamilia de receptores tipo cinasa de tirosina. Estos receptores se activan con la unión de insulina o IGFs, induciendo su actividad intrínseca de cinasa de tirosina e iniciando la transducción de la señal. La señal originada por la interacción hormona/factor de crecimiento-receptor es internalizada a la célula, a través de una cascada de reacciones de fosforilación que involucran diferentes cinasas y la producción de metabolitos específicos que funcionan como segundos mensajeros (Rodríguez-López, 2011)

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo General

Evaluar el efecto de las concentraciones de insulina y giberelina, adicionadas durante el remojo de las variedades de cebadas Esmeralda y Alina, sobre los principales parámetros de calidad que se requieren para las maltas cerveceras.

#### 3.2 Objetivos particulares

- Evaluar el efecto de diferentes concentraciones de insulina, adicionadas durante el primer remojo de las cebadas Esmeralda y Alina sobre el poder diastásico a diferentes tiempos de germinación de la semilla.
- Evaluar el efecto de diferentes concentraciones de insulina, adicionadas durante el segundo remojo de la cebadas Esmeralda y Alina sobre el poder diastásico a diferentes tiempos de germinación de la semilla.

#### 3.3 Hipótesis

La aplicación de Ácido Giberélico ( $AG_3$ ) e Insulina en las semillas de cebada aceleran la germinación y por tanto el ciclo de producción de una malta cervecera de buena calidad.

### 4. MATERIALES Y METODOS

#### 4.1 Materia prima

En este trabajo se manejaron 2 variedades de cebada (*Hordeum vulgare*) producidas en regiones de los Estados de Hidalgo y Tlaxcala proporcionadas por Impulsora Agrícola S.A. de C.V.

Se partió de una muestra representativa de granos de cebada conocida de 6 kg de cada variedad de cebada.

Durante la investigación, todos los experimentos se realizaron por triplicado.

#### 4.2 Evaluación de calidad maltera en cebadas

##### 4.2.1 Viabilidad de germinación (Porcentaje de germinación)

Este parámetro se evalúa para ver si las semillas de cebada son aptas para el malteado (Método 6.11.2.3; NMX-FF-043-SCFI-2003). Se contaron 100 granos de cebada en un matraz Erlenmeyer de 125 mL, se adicionó 100mL de agua destilada y 2mL de peróxido de hidrógeno al 30%, inmediatamente se taparon los matraces con papel parafilm®. Después de 2 días se cuantificaron los granos germinados y se determinó el porcentaje de germinación de las muestras analizadas.

Para este caso, el porcentaje de germinación es igual al número de granos germinados. La NMX-FF-043-SCFI-2003 establece que las muestras que presenten porcentajes de germinación mayores que 85% son aptas para el malteado.

### Expresión de resultados

$$\begin{aligned} & \text{Porcentaje de germinación (\%)} \\ & = (\text{Granos totales} - \text{Granos no germinados}) * 100 \end{aligned}$$

#### 4.2.2 Tamaño de raicillas

Se trata de un análisis complementario al porcentaje de germinación, consistió en medir el tamaño de la raíz alcanzada durante la germinación. Cuando el tamaño de raíz alcanza  $\frac{3}{4}$  a 1.5 veces el tamaño del grano, es decir, de 75 a 150%; la absorción de agua ha sido eficiente y el poder enzimático de la cebada es adecuado para la conversión de carbohidratos en azúcares fermentables (*Figueroa, 1985*).

Para medir el tamaño de raicillas se seleccionaron al azar 10 granos germinados de las muestras del porcentaje de germinación, luego usando una regla se midió el tamaño de la raíz en cada grano.

### Expresión de resultados

$$\text{Tamaño de raicillas (\%)}^a = \left[ \frac{(T_1 - T_2)}{T_1} * 100 \right]$$

Donde:

*a* Con respecto al tamaño del grano

$T_1$  = Tamaño del grano (cm)

$T_2$  = Tamaño de la raicilla (cm)

### 4.2.3 Determinación de humedad

Es la determinación de agua contenida en el grano mediante la pérdida de masa que se logró al aplicar un secado bajo condiciones específicas de tiempo y temperatura, este análisis se realizó en base a la determinación de humedad especificada en el método: 4.2; Analytica EBC, 2003.

#### a) Humedad alcanzada después del remojo

Se pesaron 3g de cebada remojada en charolas de aluminio previamente pesadas y taradas, posteriormente se colocaron en una estufa para el secado a 60°C, durante 3 días; 80°C y 100°C 24 horas. Después las muestras se dejaron enfriar en un desecador a temperatura ambiente, hasta que alcanzaron peso constante, para hacer el cálculo de la pérdida de masa por eliminación de agua. La humedad ideal para la germinación es de 40-45%.

#### b) Humedad de secado

Después del secado, se pesaron 10g de malta en charolas de aluminio (previamente pesadas y taradas), las muestras fueron sometidas a las mismas condiciones de determinación de humedad de remojo, la humedad óptima de secado debe ser de 3.8-7.3%.

### **Expresión de resultados**

$$\text{Humedad (\%)} = \frac{(W_1 - W_2)}{W_1} * 100$$

*Donde:*

*W1 = Masa de la muestra húmeda*

*W2 = Masa de la muestra después del secado*

### **4.3 Pruebas preliminares de lavado aséptico, remojo, germinación y secado**

Se realizaron algunos experimentos con el fin de establecer diversos parámetros de tiempo y temperatura para el diseño de experimentos del malteado, como son lavado aséptico, remojo, germinación y secado.

Se realizó una limpieza exhaustiva de la cebada, porque debe estar exenta de impurezas, granos rotos y demás materias extrañas.

Posteriormente, una vez limpia la cebada se pesaron 25 gramos de cebada, se colocaron en recipientes de plástico limpios, se les puso 100mL de solución de etanol al 70% durante 1 minuto; después de este tiempo se les colocó 100mL de una solución de cloro al 50% por 20 minutos y posteriormente se llevaron a cabo 6 lavados de 5 minutos c/u con agua estéril.

#### **4.3.1 Experimentos de remojo**

En este caso se llevaron a cabo los experimentos para poder establecer las condiciones de tiempo y temperatura de la etapa de remojo.

##### **a) Remojo a temperatura ambiente (20-25°C)**

Las dos variedades de cebada se sometieron a remojo a temperatura ambiente entre 20 y 25°C. Se colocaron 25g de cebada en cajas petri (150\*15mm de poliestireno) estériles, se agregaron 50mL de una solución de insulina (Insulina humana de acción intermedia Lilly® 100µU) en concentración de 400µU/mL, para ello se utilizó una solución stock de 100U/mL. En el caso de

ácido giberélico (Giberelic Acid Research Organics Inc.) se utilizó en concentración 0.5 ppm y se partió de una solución stock de 10 mg/mL. Cada 12 horas los recipientes se agitaban una vez de manera manual y de forma circular, para proveer de oxígeno a la muestra.

Se llevó a cabo un segundo remojo en el cual se cambió el agua de remojo y se colocaron 50mL de agua ya sea solo agua esterilizada o de una solución de alguna de las 2 hormonas o de ambas, esto dependía del tratamiento que se esté llevando a cabo en ese momento. En este momento los granos de cebada alcanzaron una humedad de 44%.

En este experimento la etapa de remojo duró 3 días, para el análisis de incremento de humedad, se tomaron muestras a diferentes intervalos de tiempo (Analytica EBC, 2003).

### b) Remojo a 22°C

De acuerdo a investigaciones previas se estableció este experimento de temperatura de remojo a 22°C, pero esta vez solo con agitación manual y mecánica constante. Se colocaron las cajas en el invernadero del Conjunto del edificio E en agitación constante a 22°C y a oscuridad durante 12 horas. Pasadas las 12 horas a temperatura de 22°C, en agitación constante y a oscuridad en el invernadero las semillas se sacaron, se escurrieron en recipientes con manta de cielo durante 30 minutos, para evitar las condiciones anaerobias. Como en el experimento anterior se llevó a cabo un segundo remojo en el cual se cambió el agua de remojo y se colocaron 50mL de agua ya sea solo agua esterilizada o de una solución de alguna de las 2 hormonas o de ambas, esto dependía del tratamiento que se estuviera llevando a cabo en ese

momento. En este momento los granos de cebada alcanzaron una humedad de 44%.

### c) Remojo a 18°C

Durante el remojo realizado a temperatura ambiente las muestras presentaron desarrollo de mohos y levaduras, debido a ello se planteó un tercer experimento de remojo a 18°C durante 48 y 96 horas con la finalidad de reducir el desarrollo microbiano, procurando alterar al mínimo la actividad metabólica del grano de cebada. Se sometieron a remojo las semillas de las dos variedades de cebada Esmeralda y Alina, poniendo un control para cada una, es decir, solo con agua, y otras adicionando las hormonas insulina y ácido giberélico. Las cantidades de muestra fueron las mismas que para los experimentos anteriores. Se realizó el cambio de agua y hubo agitación manual (cada 12 horas) y mecánica constante por medio de una bomba de aire. Este remojo se llevó a cabo en una incubadora con refrigeración, sin recirculación de aire se determinó humedad a diferentes intervalos de tiempo.

Cabe señalar que se repitió el segundo y tercer experimentos, es decir, a temperatura de 18 y 22°C, oscuridad, circulación de aire.

### **4.3.2 Condiciones de germinación**

Esta prueba se hizo con el objetivo de establecer tiempos y temperaturas de germinación. Las muestras de humedad conocida aproximadamente de 45% obtenidas en la etapa de remojo a 22°C y 18°C; se sometieron a germinación entre 16-22°C, durante 3 y 4 días.

Se colocaron los granos de cebada remojada sobre charolas de plástico con algodón y papel filtro N°. 40; posteriormente se mantuvieron a las

temperaturas indicadas dentro de cajas selladas, para evitar pérdidas de humedad. Las muestras fueron sometidas a germinación en la misma incubadora donde se llevó a cabo el remojo. Se evaluó la viabilidad de la etapa de germinación a diversos tiempos de esta fase (Figuras 9 – 14).

### 4.3.3 Condiciones de secado

Ambas variedades de cebada (Alina y Esmeralda) se secaron a 60°C en una estufa para secado, se determinó la humedad a diferentes intervalos de tiempo del proceso de secado.

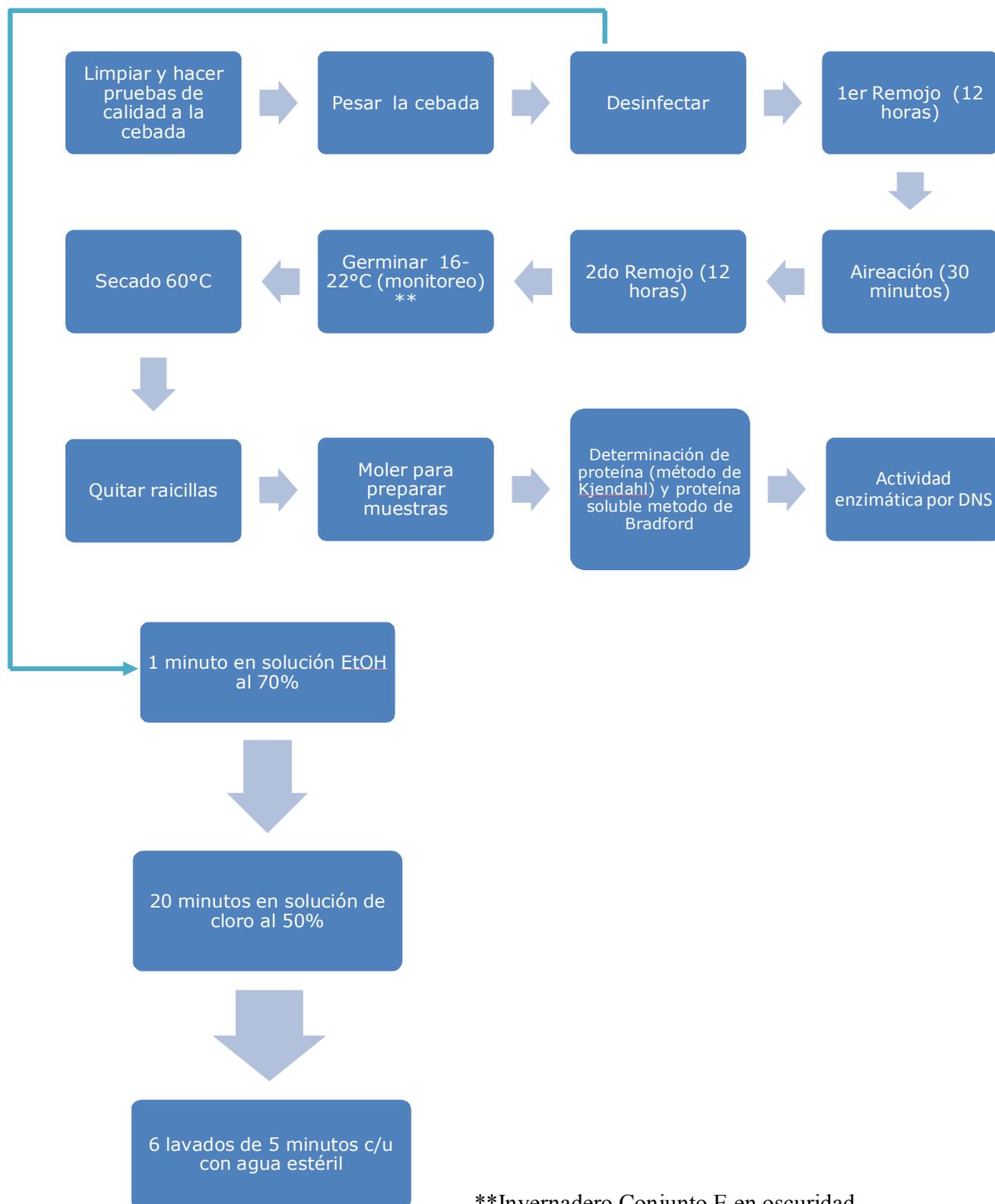
### 4.4 Diseño de experimentos

Con base en las pruebas preliminares, se realizó un diseño de experimentos con las condiciones más importantes de malteado.

**Tabla 4.** Diseño de experimentación para cebada

Etapa de malteado	Temperatura	Tiempo
Remojo	18°C	2 y 4 días
Germinación	16-22°C	2 y 4 días
Secado	60°C	2 y 3 días

### Diagrama de flujo.



\*\*Invernadero Conjunto E en oscuridad.

### **4.5 Malteado de cebada**

#### **4.5.1 Selección y limpieza**

Se realizó una inspección visual para evaluar el color y olor de la muestra, posteriormente, cada una de las variedades se limpió de manera manual para eliminar semillas ajenas, piedras, hojas, tierra, otras impurezas, granos quebrados y se obtuvieron granos de tamaño uniforme, desde 6mm hasta 1.0 cm. Esta actividad se hizo con todo el lote de cada variedad.

#### **4.5.2 Remojo**

Se lavó una muestra de 500g de cada variedad de cebada con agua potable, se colocó en vasos de precipitados de 2 litros. La muestra de cebada se mezcló con 1.5L de agua desinfectada. Las condiciones de agitación y cambio de agua fueron similares a las reportadas para el experimento previo de remojo a 18 y 22°C. Las muestras se mantuvieron a 18 y 22°C durante 2 a 4 días (según el tratamiento de remojo), en la incubadora con refrigeración, al finalizar el remojo se determinó la humedad de las muestras.

#### **4.5.3 Germinación**

Una vez terminada la etapa de remojo, se eliminó el agua de las muestras; las cebadas remojadas se colocaron en recipientes rectangulares, se sellaron con su tapa para evitar la pérdida de humedad. Se aplicaron 2 o 3 volteos manuales para evitar entrecruzamiento de raicillas. Durante la etapa de germinación las condiciones fueron de 2 a 4 días a 22°C. La germinación se realizó en la misma incubadora del remojo.

### **4.5.4 Secado**

Las muestras se colocaron en charolas de aluminio, fueron sometidas a 60°C durante 3 días aproximadamente en una estufa para secado. Se determinó la humedad después del secado las maltas se almacenaron en bolsas de plástico y/o tubos de centrifuga de 50mL a -4°C, para evitar contaminaciones posteriores causadas principalmente por microorganismos.

### **4.5.5 Molienda y eliminación de raicillas**

Las raíces originadas durante la germinación se eliminaron por abrasión de las maltas (Pelembre et al, 2002); aunque no se cuantificó el peso de raicillas eliminadas. Se realizó una molienda seca a las maltas; las muestras se trituraron durante 1 minuto en un molino eléctrico de manera que se obtuvo un tamaño de partícula fino.

### **4.6 Análisis de calidad de maltas terminadas**

La evaluación de las maltas se realizó mediante análisis de pérdidas por malteado, poder diastásico, nitrógeno, proteínas (método de Bradford) Yodometría.

#### **4.6.1 Pérdidas por malteado**

En este análisis se determinó el rendimiento de la cebada ante el proceso de malteado y consistió en calcular las pérdidas de materia prima después de haber elaborado la malta. Antes de comenzar el malteado, se obtuvo el peso inicial de cada una de las muestras de cebada y después de la fase de secado, se pesaron de nueva cuenta las maltas para obtener las pérdidas por diferencia de peso. Mayores pérdidas de malta están relacionadas con crecimientos excesivos de raicillas o con altos porcentajes de germinación. Las pérdidas por malteado no deben ser mayores que 20 ó 25% pues si estas exceden, el rendimiento de la malta se considera como deficiente.

### Expresión de resultados

$$\text{Pérdida por malteado (\%)} = [(W_1 - W_2)/W_1] * 100$$

Donde:

$W_1$  = Peso de la cebada antes del malteado (g)

$W_2$  = Peso de la malta después del secado (g)

#### 4.6.2 Determinación del poder diastásico de malta

Se extrajeron las enzimas  $\alpha$  y  $\beta$ -amilasas de la malta con agua a 40°C, posteriormente una solución de estándar de almidón fue hidrolizada por estas enzimas y finalmente se estimó por un método yodométrico la cantidad de azúcares reductores formados por la acción amilolítica. La determinación del poder diastásico se realizó en base al método 4.12 de Analytica EBC, 2003.

##### 1. Extracción enzimática.

Se sometieron al análisis 2g de malta molida con 48mL de agua a 40°C y agitación durante una hora. Terminada la extracción de enzimas se enfrió a temperatura ambiente y se centrifugo.

##### 2. Hidrólisis enzimática del almidón.

Se adicionaron 0.5mL del extracto enzimático a 10mL de una solución de almidón (20g/L) a pH 4.3, ajustado con un buffer de acetato de sodio, la hidrólisis se llevó a cabo a 20°C durante 30 minutos. La reacción anterior se detuvo con la adición de 0.4mL de NaOH (1M), la alcalinidad de la muestra se comprobó con la adición de timoftaleína (color azul claro). Se preparó un blanco por cada muestra con las mismas condiciones pero sin muestra de enzimas.

3. Determinación de azúcares reductores, por el método Yodométrico  
Se adicionaron 2.05mL de yodo (0.1M) y 0.3mL de NaOH a una alícuota de 0.5mL de la muestra y al blanco; la mezcla se mantuvo durante 15 minutos. Cuando la reacción finalizó se adicionaron 0.45mL de ácido sulfúrico (0.5M). Las muestras cambiaron a color azul opaco. Posteriormente, las muestras se titularon con una solución tiosulfato de sodio (0.1M) hasta desaparecer el color azul, el cual formó complejos con el yodo que no reaccionó con el ácido sulfúrico.

### **4.6.3 Nitrógeno total en malta y determinación de proteínas**

Se trata del proceso de determinación de proteínas Kjeldahl-Gunning (Métodos 3.3.1 y 4.3.1 Analytica EBC) el cual se llevó a cabo mediante los siguientes pasos:

1. Digestión. Se tomaron 3g de malta seca, se adicionaron 20 mL de ácido sulfúrico concentrado y una mezcla catalizadora formada por sulfato de cobre y sulfato de potasio. Después la muestra se sometió a 450°C, durante 4 horas en un equipo de digestión (Buchi 426 Digestión). Durante la digestión, el nitrógeno proteico y el no proteico se combinan a altas temperaturas con iones de hidrogeno formando amoniaco, este último vuelve a reaccionar con hidrógeno, ácido sulfúrico y oxígeno para formar sulfato de amonio, se libera dióxido de carbono y agua como productos de la digestión. Cuando las muestras tenían un color transparente, se sacaron y se les adicionó 70mL de agua destilada para evitar la precipitación del catalizador.
2. Las muestras se destilaron en un equipo de destilación automático Gerhardt (Buchi 316 Distillation Unit y Buchi K-350 Distillation unit). A cada muestra se le adicionaron 80mL de hidróxido de sodio al 30% con ello el sulfato de amonio se

descompuso en hidróxido de amonio que se desprendió como destilado. La muestra se recibió en 50 mL de ácido bórico con indicador.

3. Titulación. El destilado se tituló con ácido sulfúrico 0.1N.

### Expresión de resultados

$$N_2(\%) = \left\{ \frac{(A * B)}{W} \right\} * 1.4 \quad \text{Proteínas (\%)} = \%N_2 * 5.8$$

Donde:

A= mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.1N gastados durante la titulación

B= Normalidad de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (próxima a 0.1N)

W= Peso de la muestra (g)

1.4= Factor de Nitrógeno

5.8= Factor de conversión para las proteínas en cebada (Callejo, 2002)

#### 4.6.4 Determinación de proteína soluble por Bradford

Se tomaron 15 µL de cada extracto enzimático y se adicionaron 785 µL de agua y 200µL de reactivo Azul de Coomase de Bio-Rad. Se mezclaron las muestras en un vórtex y se dejaron reposar a temperatura ambiente durante 5 minutos. Se preparó el blanco en las mismas condiciones adicionando agua en lugar de extracto. La cuantificación se realizó en el espectrofotómetro a 595nm (Anexo-Diagrama 3). Se realiza la cuantificación con ayuda de la curva patrón.

#### 4.7 Actividad enzimática por el método de DNS

Se basa en la reducción de un grupo nitro para la formación de aminas, el aldehído de los azucres es oxidado. En tubos de ensayo (Pirex #9820) se tomó 1mL de la solución acuosa de la muestra, se adicionó

1mL del reactivo DNS, se agitó y calentó durante 5 minutos en un baño de agua hirviendo (Parrilla Thermoline Cimarec®) Una vez fríos, se diluyeron con 8mL de agua destilada. Por último se leyó la absorbancia del color producido a 540nm (Espectrofotómetro BECKMAN- Coulter Modelo DU-640 UV-Visible, made in USA) frente a un blanco de agua y reactivos tratado igual que las muestras y otro blanco con almidón, extracto enzimático pero con la reacción detenida inmediatamente.

### **4.8 Ácido Giberélico e Insulina**

Se realizaron varios experimentos para comparar la germinación de cebada con adición de ácido giberélico e insulina a diferentes concentraciones, adicionando en agua de remojo, en agua de riego durante la germinación, con un control para cada variedad, es decir, sin adicionar y/o agregar ácido giberélico y/o insulina; bajo condiciones ya mencionadas y controladas de luz y temperatura. La germinación se consideró al aparecer la radícula. Los porcentajes de germinación se compararon para demostrar si había diferencias entre los tratamientos y entre las variedades de cebada Alina y Esmeralda.

Las concentraciones de ácido giberélico usadas fueron: 0.1ppm, 0.5ppm, 1.0ppm,

Mientras que las concentraciones utilizadas para insulina fueron: 100 $\mu$ U, 200 $\mu$ U, 400 $\mu$ U, 600 $\mu$ U, 800 $\mu$ U y 1000 $\mu$ U.

### 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 5.1 Evaluación de calidad maltera en cebadas

Las dos variedades de cebada analizadas durante este trabajo fueron de composición física y proximal conocida. La evaluación física consistió en aplicar análisis sensoriales (olor y color), de impurezas, sanidad y análisis selectivos; así mismo se determinó el contenido de carbohidratos, humedad y proteínas, ya que estos análisis son los sugeridos en investigaciones previas y similares para la evaluación de las cebadas, (*Williams, 1985; Czuchajowska et al, 1992; Kaukovitra-Norja et al 1997*). La valoración de la calidad de las cebadas se completó con pruebas de viabilidad de germinación.

Los resultados promedio de las pruebas físicas y selectivas se muestran en la Tabla 5, valores reportados en base a las especificaciones de la NMX-FF043-SCFI-2003.

**Tabla 5.** Comparación de parámetros de las cebadas Alina y Esmeralda con respecto a la NMX-FF-043-SCFI-2003

Características	NMX-FF-043-SCFI-200 (%)	Variedad Esmeralda (%)	Variedad Alina (%)
<b>Grano de germinación</b>	85 (mínimo)	88	89
<b>Grano dañado</b>	10	1.6263	0.68
<b>Granos desnudos y quebrados</b>	5	0.768	0.125
<sup>1</sup> <b>Impurezas</b>	2	0.9948	0.293
<b>Humedad</b>	11.5-13.5	12	12
<b>Contenido de proteína</b>	11.5	12	12

<sup>1</sup> Impurezas de la cebada: piedras, partes de insectos en su mayoría catarinas, ninguna variedad presentó insectos vivos.

\*Calculo por variabilidad germinativa

Sensorialmente, la mayoría de las variedades de cebada presentaron un olor y color característico del grano sano y seco. La ausencia de alteraciones de olor y color de los granos es señal de que las muestras analizadas no mostraron contaminación evidente causada principalmente por insectos u hongos.

De acuerdo al contenido de impurezas, ambas variedades se encontraban dentro del límite establecido por la norma que es de 2% y estas variedades de cebadas estaban alrededor de 1%, por lo que su limpieza previa implicó poco tiempo, se obtuvo un buen rendimiento y por tanto se espera que sean de buena calidad, ya que la presencia de granos dañados representa un menor rendimiento durante el proceso de molienda y elaboración de malta (Serna, 2001).

En cuanto a granos dañados la norma NMX-FF-043-SCFI-2003 establece un 10% como máximo de granos dañados, las 2 variedades de cebada maltera cumplieron con lo establecido por la norma, siendo Alina la que presentó más bajo contenido de granos dañados con un 0.68% y Esmeralda tuvo un 1.63%. Entre los daños que se encontraron estaban: granos quebrados, granos verdes, granos desnudos. Los granos dañados son el resultado de la falta de condiciones adecuadas durante la maduración de la espiga, falta de agua o nutrientes, estrés térmico, otras condiciones adversas a las que puede estar expuesto el grano.

Para los granos quebrados y desnudos, ninguna de las variedades de cebada sobrepasó el 5%, que es el valor máximo establecido por la norma. Ambas estaban por debajo del 1%.

Los resultados obtenidos durante el análisis físico indicaron que Alina y Esmeralda se encuentran en condiciones adecuadas para la elaboración de malta cervecera.

En cuanto a la humedad del grano de cebada ambas variedades de cebada presentaron el 12% por lo que se encuentran dentro de los límites establecidos por la norma; por lo que el metabolismo de las semillas de cebada está inactivo debido a que sus tejidos no están hidratados es por ello que la humedad es un parámetro importante en cuanto a almacenamiento de las semillas. El porcentaje de germinación se relaciona directamente con la viabilidad de germinación del grano de cebada y de acuerdo a la NMX-FF-043-SCFI-2003 las muestras con un 85% de germinación son ideales para la elaboración de malta cervecera, en este caso tanto Alina (89%) como Esmeralda(88%) tienen porcentajes de germinación que cumplen con el valor requerido por la norma.

En base a los resultados anteriores, las dos variedades analizadas cumplieron con los parámetros requeridos por la norma para ser clasificadas como cebadas de calidad maltera.

### **5.2 Pruebas preliminares de remojo, germinación y secado**

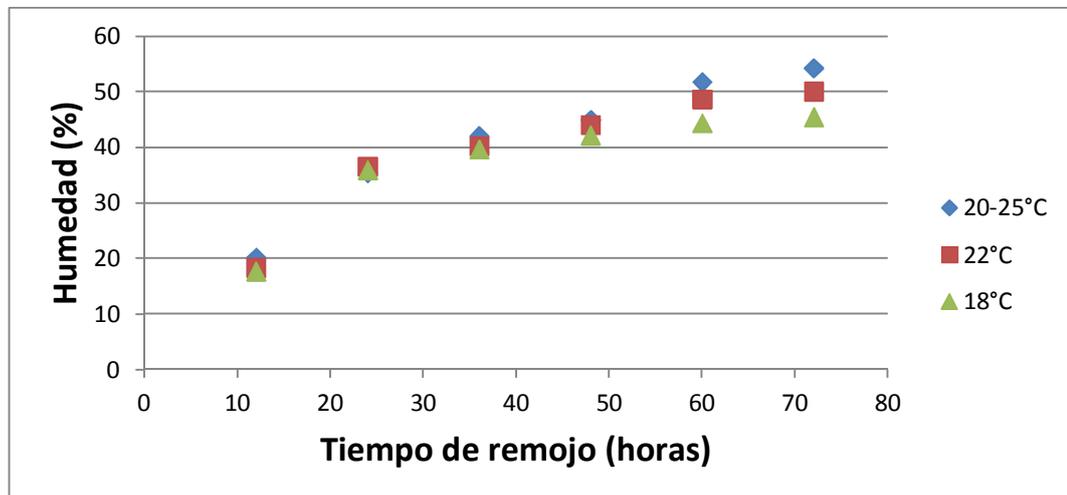
Estos resultados se utilizaron para establecer el diseño de experimentos.

#### **a) Tiempo y temperatura de remojo**

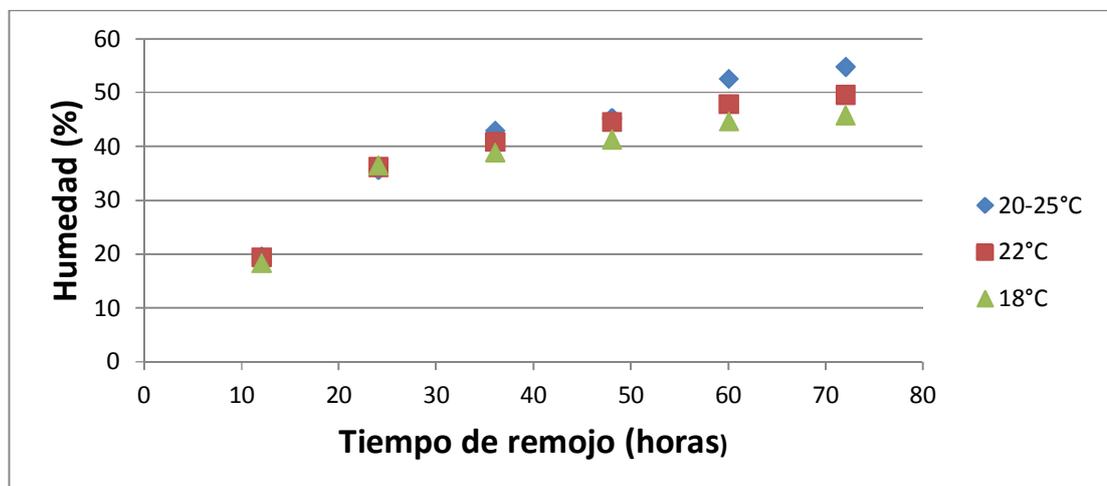
Para poder establecer el tiempo y temperatura más adecuados de la etapa de remojo, las variedades de cebada se sometieron a tres tratamientos distintos: a temperatura ambiente (20-25°C); remojo a 18°C y remojo a 22°C. Los tres se dejaron en remojo durante 3 días.

La humedad ideal del grano de cebada después de la etapa de remojo debe ser de 40-45% (Analytica EBC, 2003); ya que una humedad deficiente en el grano de cebada no es conveniente ya que está relacionada con conversiones enzimáticas inadecuadas; mientras que porcentajes por encima de 45% de humedad favorecen el crecimiento

excesivo de raicillas e incluso puede propiciar el desarrollo microbiológico.



**Gráfica 1.** Evaluación del porcentaje (%) de Humedad de las semillas de la variedad Alina sometidas durante 80 horas a diferentes temperaturas, las semillas fueron colocadas en recipientes de plástico, incubadora y oscuridad.



**Gráfica 2.** Evaluación del porcentaje (%) de Humedad de las semillas de la variedad Esmeralda sometidas durante 80 horas a diferentes temperaturas, las semillas fueron colocadas en recipientes de plástico, incubadora y oscuridad.

En las Gráficas 1 y 2 se muestra la comparación de los promedios de humedad de ambas variedades de cebada en los experimentos preliminares de remojo.

En las dos gráficas se puede observar que en las tres temperaturas se llegó a la humedad deseada que es de 40 a 45%, en el tratamiento a temperatura ambiente y a 22°C se llegó a esta humedad en 48 horas, siendo la máxima humedad alcanzada para este tratamiento de 54% para ambas variedades por lo que la humedad resulta excesiva y por lo tanto favorece la presencia y desarrollo de microorganismos que contaminan a pesar del tratamiento de limpieza. La temperatura es un factor importante ya que el desarrollo de microorganismos, principalmente hongos, se presentó cuando las muestras se sometieron a remojo a temperatura ambiente. Se debe controlar la incidencia de microorganismos contaminantes debido a que estos disminuyen la calidad de la malta a causa de la pérdida de endospermo, lo que lleva a pérdidas significativas en el almidón y proteínas (Schwarz, 2001).

En el experimento a 18°C el incremento en la temperatura fue constante durante los 3 días y hasta el final del experimento se llegó a la humedad deseada en ambas cebadas. No hubo desarrollo microbiano en las muestras, por lo que este método fue el más eficiente para el remojo, por lo que se eligió este parámetro de temperatura y tiempo para el remojo.

### **b) Tiempo y temperatura de germinación**

Se eligieron muestras de ambas variedades de cebada y se germinaron a temperatura ambiente, durante 4 días. La viabilidad de germinación de las muestras se evaluó mediante análisis de porcentaje de germinación y tamaño de raicillas, pero estos

resultados fueron menores en cuanto al porcentaje de germinación que establece la norma que es de 85% y además hubo desarrollo de mohos en las muestras. Las raicillas se enredaron entre sí, por lo que su tamaño no fue el adecuado, fue excesivo.

Se planteo germinar a temperaturas de entre 16 y 22°C, ya que este intervalo de temperatura favorece la formación de enzimas necesarias para la etapa de germinación, si la cebada germina a temperaturas mayores a 22°C la formación y capacidad enzimática es menor. Se eligió la temperatura de 16°C por el adecuado crecimiento de raicillas que se obtuvo, porque las semillas mantenían mejor la humedad, no hubo desarrollo de hongos y hubo una adecuada modificación del grano.

### **c) Condiciones de secado**

Se hizo el secado a 60°C durante 60 horas, las humedades obtenidas después del secado se encuentran dentro de los límites que establece la Analytica EBC, 2003; que son de 3.8-7.3% por lo que el método de secado es el adecuado para la eliminación de humedad sin destruir las enzimas presentes en la malta debido a que no se manejaron altas temperaturas que pueden afectar la capacidad enzimática, con el tratamiento de secado se evitó también el desarrollo de hongos.

## **5.3 Evaluación de las fases de malteado**

### **Remojo**

Se determinó humedad al finalizar la etapa de remojo para evaluar la eficiencia de 36 horas y 72 horas a 18°C. En esta etapa de la investigación además del remojo solo con agua se adicionaron insulina y

ácido giberélico a diferentes concentraciones en el agua de remojo. Los porcentajes de humedad obtenidos se muestran en la Tabla 9.

**Tabla 9.** Porcentajes de humedad durante el remojo en Alina y Esmeralda.

Tratamiento	Alina		Esmeralda	
	Horas de remojo		Horas de remojo	
	36 h	72 h	36 h	72 h
<b>Control</b>	38.5%	43.9%	38.8%	44.3%
<b>Ácido Giberélico 0.1 ppm</b>	36.4%	44.2%	37.4%	44.7%
<b>Ácido Giberélico 0.5ppm</b>	36.3%	44.1%	37.2%	44.4%
<b>Ácido Giberélico 1.0 ppm</b>	36.9%	44.9%	37.6%	44.8%
<b>Insulina 200 <math>\mu</math>U</b>	37.5%	44.8%	36.6%	44.9%
<b>Insulina 400<math>\mu</math>U</b>	37.7%	44.0%	37.0%	44.2%
<b>Insulina 600<math>\mu</math>U</b>	37.8%	44.9%	37.5%	44.8%
<b>Insulina 800<math>\mu</math>U</b>	37.8%	44.3%	37.6%	44.1%

De acuerdo a los resultados obtenidos las muestras de cebada alcanzaron un porcentaje de humedad dentro del deseado que es entre 40 a 45% de humedad. En cuanto a la adición de las diversas concentraciones de insulina y ácido giberélico se observa que para insulina las concentraciones de 200 y 600 $\mu$ U tienen un comportamiento parecido al aumentar la humedad a lo largo del tiempo de remojo y en

## Resultados y Discusión

ambos tratamientos se llegó a una humedad final de aproximadamente 45%. En las concentraciones de 400 y 800 $\mu$ U también se alcanzó la humedad requerida, pero solo se llegó a un 44%, por ello se eligió como mejor concentración a las de 200 y 600 $\mu$ U.

En el caso del ácido giberélico se eligió la concentración de 0.1ppm por ser la concentración que más se aproximó al 45% de humedad de las semillas presentando una humedad de 44.7% de humedad final. Mientras que las concentraciones de 0.5 y 1.0 ppm solo alcanzaron humedades cercanas a 44%.

En las Figuras 9 a 14 se observan muestras de semillas de cebada tomadas a diferentes tiempos del proceso de remojo y germinación y los cambios por lo que pasan los granos de cebada durante estos proceso de malteo. En las Figuras 9 y 10 se observa que los granos de cebada están más hinchados, debido a la hidratación en el proceso de remojo. En el caso de las Figura 11 todos los granos estaban punteados de un extremo. Se observó que comenzaba a crecer la raicilla por uno de los extremos del grano de cebada (Figura 12).



**Figura 9.** (Tiempo 1) tomado

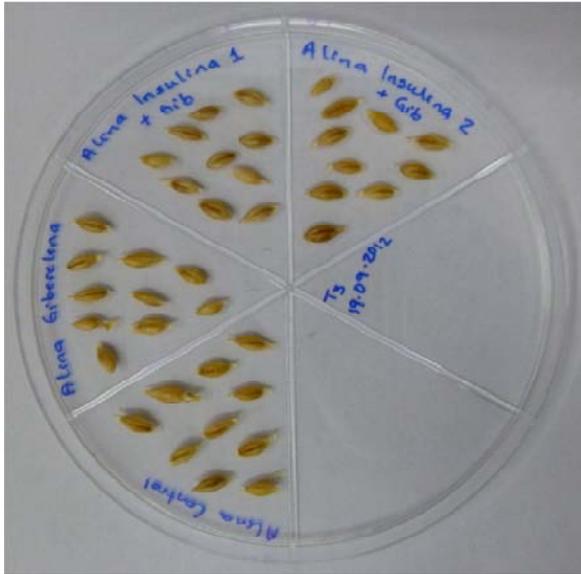


**Figura 10.** (Tiempo 2) tomado

## Resultados y Discusión

después de 12 horas de remojo de cebada variedad Alina.

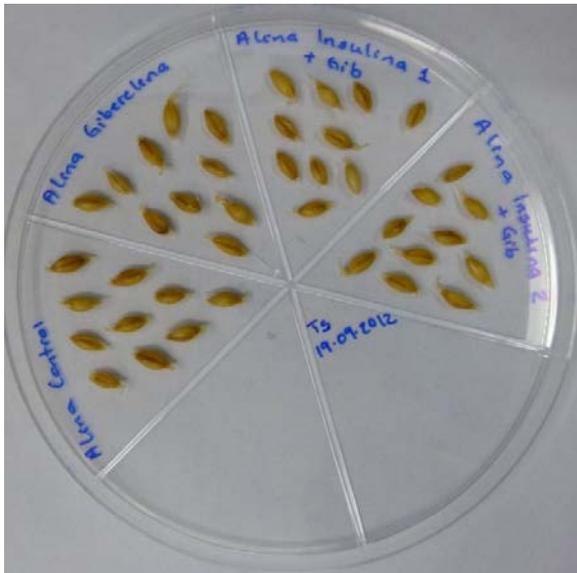
después de 24 horas de remojo de cebada variedad Alina.



**Figura 11.** (Tiempo 3) tomado después de 24 horas de remojo + 3 horas de germinación de cebada variedad Alina.



**Figura 12.** (Tiempo 4) tomado después de 24 horas de remojo + 6 horas de germinación de cebada variedad Alina.



**Figura 13.** (Tiempo 5) tomado después de 24 horas de remojo + 9 horas de germinación en cebada variedad Alina.



**Figura 14.** (Tiempo 6) tomado después de 24 horas de remojo + 20 horas de germinación en cebada variedad Alina.

En la Figura 13 se pudo ver que la germinación ya estaba iniciada por el crecimiento de la raicilla. Para la última fotografía (Figura 14) se observa el proceso de germinación en los granos, el crecimiento de la raicilla.

Los resultados obtenidos muestran que se alcanzaron porcentajes de humedad adecuados durante los 3 días de remojo, por lo que se continuó con las demás etapas del proceso de malteado para las cebadas remojadas bajo estas condiciones.

### **Germinación**

La producción y actividad enzimática de los granos de cebada se manifestó con la germinación del grano, la cual implicó el crecimiento de raicillas (Figura 15).

**Figura 15.** Fotografías de cebada Esmeralda en proceso de germinación



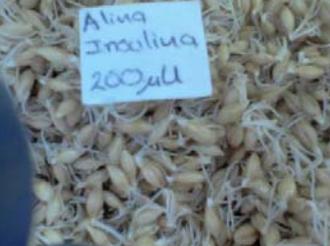


En la Figura 15 se observó las semillas de cebada variedad Esmeralda tratadas con ácido giberélico, insulina y el control con agua durante el proceso de germinación. La aceleración en el crecimiento de la raicilla se noto con los tratamientos de Ácido Giberélico a una concentración de 1ppm e Insulina 400 $\mu$ U.

Durante la germinación a 2 y 4 días, a 16°C y 22°C se evaluó la viabilidad de germinación de las muestras de cebada.

Con respecto a las muestras germinadas durante 2 días a temperatura de 22°C se presentó un porcentaje de germinación mayor a 85% que es el requerido por la norma, pero en esta temperatura de 22°C las raicillas tuvieron un crecimiento desmedido, las semillas se secaron, ver Tabla 10. Mientras que las semillas germinadas a 16°C también cumplieron con el valor señalado en la norma mexicana de 85%, y no hubo crecimiento desmedido de la raicilla solo en algunos casos que tenían tratamiento con ácido giberélico e insulina a las más altas concentraciones utilizadas, ver Tabla 10. A la temperatura de 16°C no hubo pérdida significativa de humedad en los granos de cebada.

**Tabla 10.** Imágenes de las dos variedades de cebada en germinación

Tratamiento	Alina	Esmeralda
<b>Control</b>	 <p>Alina Control</p>	 <p>Esmeralda Control</p>
<b>Insulina 200<math>\mu</math>U</b>	 <p>Alina Insulina 200<math>\mu</math>U</p>	 <p>Esmeralda Insulina 200<math>\mu</math>U</p>
<b>Insulina 400 <math>\mu</math>U</b>	 <p>Alina Insulina 400<math>\mu</math>U</p>	 <p>Esmeralda Insulina 400<math>\mu</math>U</p>
<b>Insulina 600 <math>\mu</math>U</b>	 <p>Alina Insulina 600<math>\mu</math>U</p>	 <p>Esmeralda Insulina 600<math>\mu</math>U</p>
<b>Insulina 800 <math>\mu</math>U</b>	 <p>Alina Insulina 800<math>\mu</math>U</p>	 <p>Esmeralda Insulina 800<math>\mu</math>U</p>

### **Tamaño de raicillas**

Se encontraron granos de diferente tamaño en las 2 variedades de cebada, dichas magnitudes estaban entre 0.5 y 1.2cm; pero por los resultados obtenidos se observó que el tamaño del grano no influye en el crecimiento de la raicilla, ya que los granos pequeños alcanzaron tamaño de raicilla parecido a los granos de mayor tamaño; los factores que tuvieron un efecto en el crecimiento de la raicilla durante la germinación fueron el tiempo, la temperatura y la adición de ácido giberélico e insulina.

De manera general el tamaño de las raicillas se incrementó conforme al tiempo de remojo y la temperatura de germinación, ya que se obtuvieron porcentajes de germinación mayores en 4 días. La combinación de 16°C y 4 días de germinación es el tratamiento que favoreció el crecimiento adecuado de raicillas para las cebadas Alina y Esmeralda.

### **Secado**

Al terminar la etapa de germinación, todas las muestras se llevaron a un proceso de secado a 60°C, durante 3 días, este proceso se hizo para inactivar las enzimas, eliminar la humedad de las cebadas germinadas y así poder almacenarlas sin riesgo a contaminación de microorganismos. De manera sensorial, con el tratamiento de secado se acentuaron colores más oscuros en la malta, así también como un cambio de olor muy notable y tanto el grano como las raicillas perdieron humedad, lo que permitió que se eliminaran de una manera más sencilla (Figura 16).



**Figura 16.** Cebada después del secado a 60°C durante 72 horas.

En las condiciones de 60°C y 3 días para el secado se favoreció la eliminación de agua, y la humedad que se logró alcanzar fue de 2 a 5% aproximadamente para las muestras de malta. Por lo que estos porcentajes de humedad se encuentran dentro del límite establecido por la Analytica EBC, 2003 que es de 3.0-7.3%, con este rango se asegura que las maltas obtenidas después del secado no sufrieran contaminación.

**Tabla 11.** Porcentaje de Humedad del secado a 60°C durante 3 días.

Variedad	Germinación 2 días		Germinación 4 días	
	16°C	22°C	16°C	22°C
<b>Alina</b>	2.3	2.6	4.2	4.5
<b>Esmeralda</b>	3.3	3.5	4.0	4.3

Los resultados obtenidos y mostrados en la Tabla 11, permitieron comprobar que el tratamiento de secado fue el adecuado para las cebadas sometidas al análisis, las condiciones de secado permitieron obtener maltas claras, por lo que se supone que las maltas generadas deben poseer una eficiente capacidad enzimática, ya que no hubo temperaturas altas de secado.

Con el proceso de secado se concluyó el malteado de la cebada, las maltas obtenidas se almacenaron a 4°C para evitar el desarrollo de microorganismos; mantener estables los parámetros obtenidos en el malteado como son la humedad, color y olor de la malta.

### **5.4 Optimización del proceso de malteado y selección de maltas de mejor calidad.**

#### **Pérdidas por malteo**

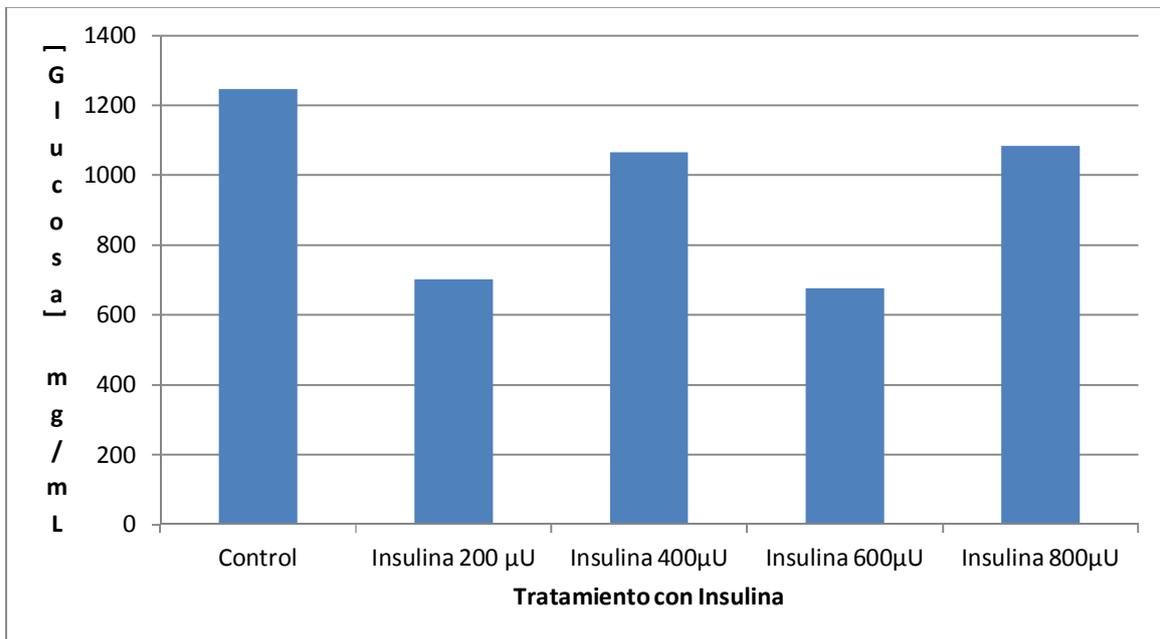
Son causadas por el proceso de malteado, se deben en su mayoría al peso de raicillas eliminadas, otra parte se debe a mermas del grano por oxigenación, estas pérdidas suelen ser mayores conforme aumenta la viabilidad de germinación. Estas pérdidas no deben superar el 25% (Figuroa, 1985).

En investigaciones previas realizadas por *Pelembre et. Al* (2002), se demostró que las pérdidas por malteado son afectadas significativamente por el tiempo y la temperatura de germinación, siendo mayores cuando aumentan el tiempo y temperatura, de esta manera las pérdidas por malteado son adecuadas cuando las condiciones de germinación se encuentran entre 20-25°C por un tiempo máximo de 5 días.

También se tiene el dato *Pelembre et. Al* (2002) que las pérdidas generadas para la cebada variedad Esmeralda están en 14%, con germinación durante 4 días a 20°C, por lo que hay una viabilidad de germinación adecuada y una eficiente capacidad enzimática.

### **Poder diastásico en malta**

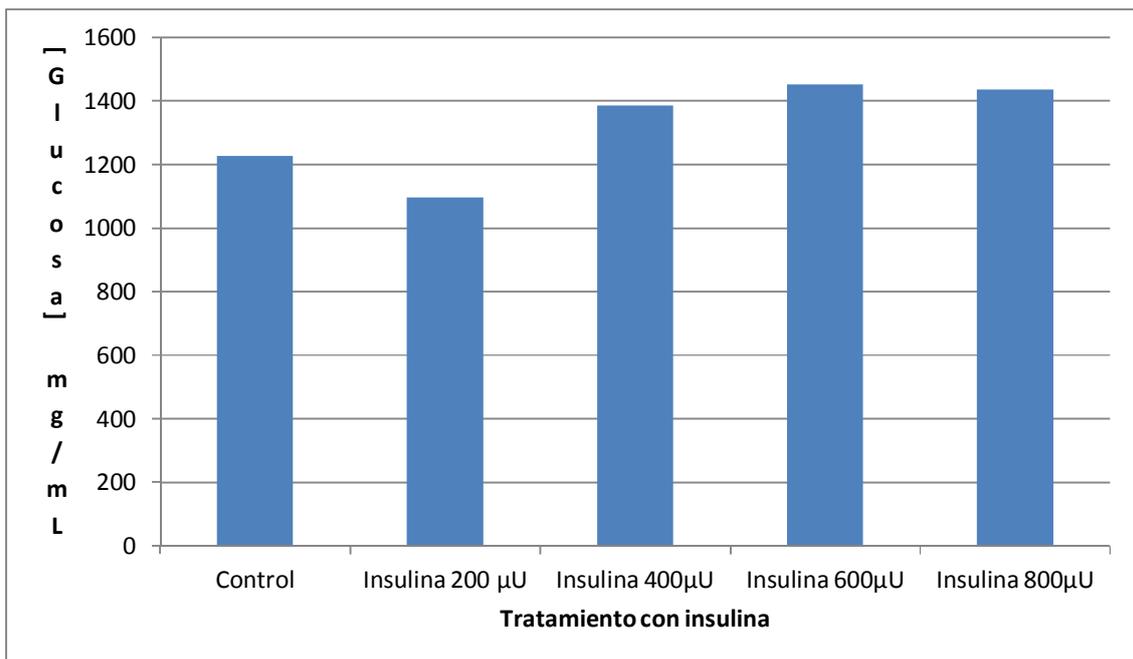
Este poder representa la capacidad enzimática de las  $\alpha$  y  $\beta$ -amilasas, que son las enzimas encargadas de la degradación del almidón; por esta razón es conveniente que las maltas tengan un alto poder diastásico, de 200 a 600 Unidades Windisch-Kolbach; (Analytica EBC, 2003); porque así se asegura la obtención de azúcares necesarios para la fermentación durante la elaboración de la cerveza.



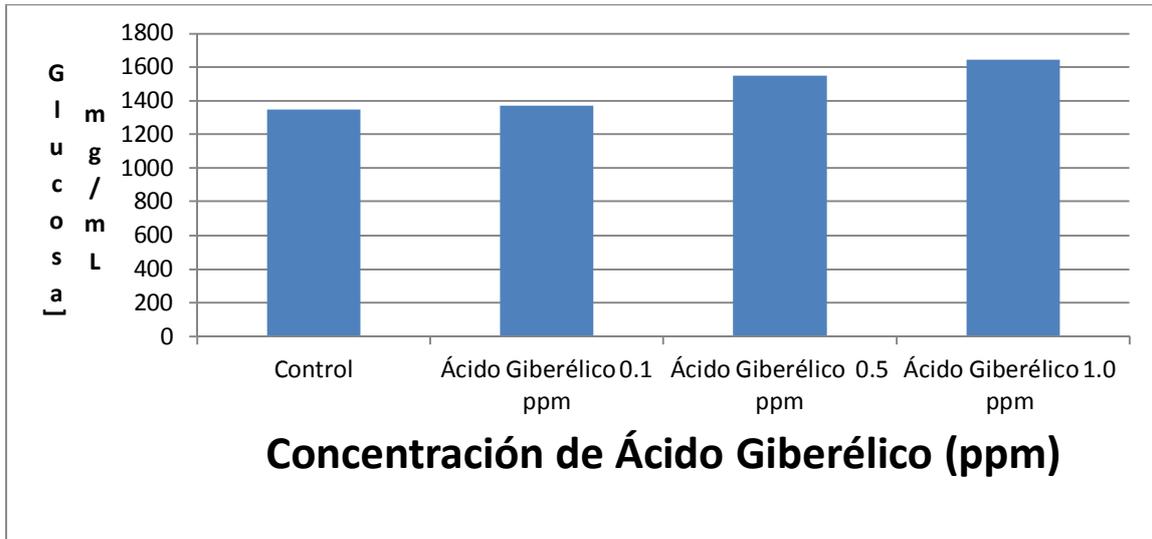
**Gráfica 3.** Poder diastásico en malta variedad Esmeralda tratada con Insulina a concentraciones de 200,400, 600 y 800µU, condiciones de remojo de 72 horas a 18°C, secado de 60°C por 72 horas.

## Resultados y Discusión

La actividad de las enzimas no se favorece con ningún tratamiento de Insulina en la cebada Esmeralda, sin embargo, las concentraciones de insulina de 400 y 800  $\mu\text{U}$  son las que se acercaron más al valor obtenido en el control, mientras que en las otras dos concentraciones el poder diastásico se ve afectado de forma negativa ya que disminuyó (Gráfica 3). Por lo que la adición de insulina en Cebada Esmeralda no favoreció su poder diastásico, y no es necesaria su adición. En el caso de la malta tratada con Ácido Giberélico se ve una influencia positiva y directamente proporcional, ya que al aumentar la concentración de ácido Giberélico también aumenta el poder diastásico, como se observa en la Gráfica 5.

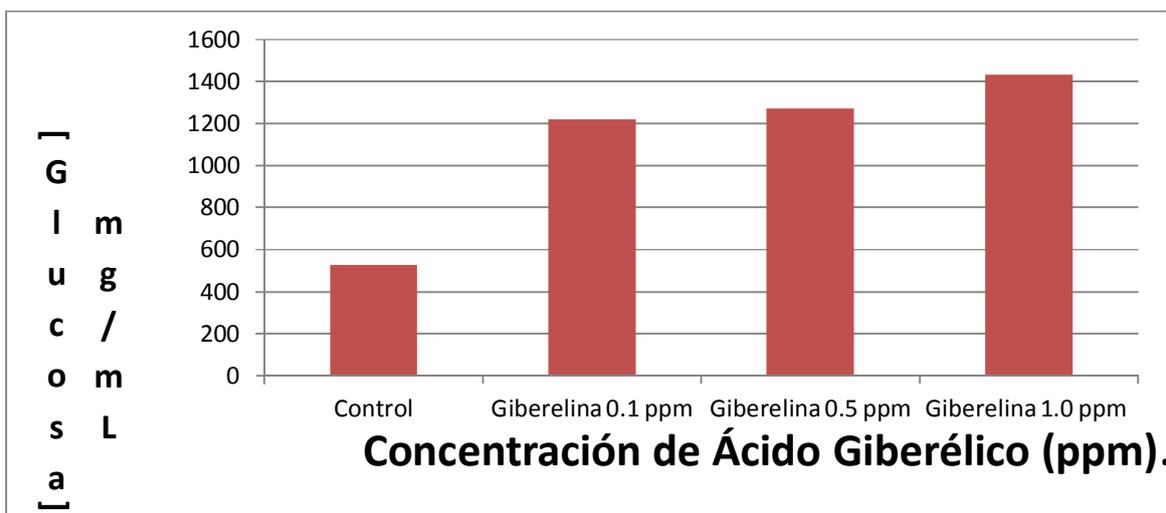


**Gráfica 4.** Poder diastásico en malta variedad Alina tratada con Insulina a concentraciones de 200,400, 600 y 800 $\mu\text{U}$ , condiciones de remojo de 72 horas a 18°C, secado de 60°C por 72 horas.



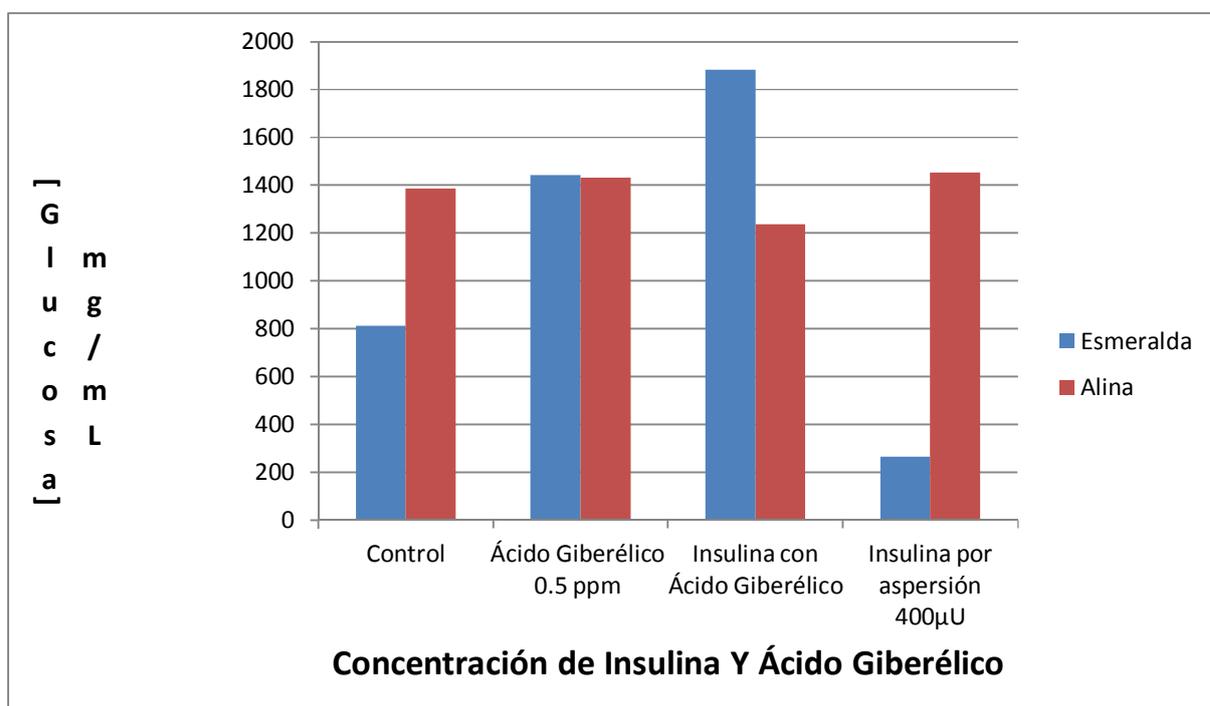
**Gráfica 5.** Poder diastásico en malta variedad Esmeralda tratada con Ácido Giberélico a concentraciones de 0.1, 0.5 y 1.0 ppm, condiciones de remojo de 72 horas a 18°C, secado de 60°C por 72 horas.

En el caso de variedad Alina el poder diastásico se ve favorecido conforme se aumento la concentración de ácido giberélico, siendo la concentración de 1.0ppm la que mas favorece el valor de azucares reductores en la malta (Gráfica 6).



**Gráfica 6.** Poder diastásico en malta variedad Alina tratada con Ácido Giberélico a concentraciones de 0.1, 0.5 y 1.0 ppm, condiciones de remojo de 72 horas a 18°C, secado de 60°C por 72 horas.

Para las semillas tratadas con ácido giberélico, se ve una influencia en cuanto al poder diastásico de las maltas, ya que cuanto mayor es la concentración de ácido giberélico adicionada en la cebada, mayor fue el poder diastásico en la malta. El tratamiento de germinación que generó mejor capacidad enzimática fue el de 4 días a 16°C, con una adición de ácido giberélico.



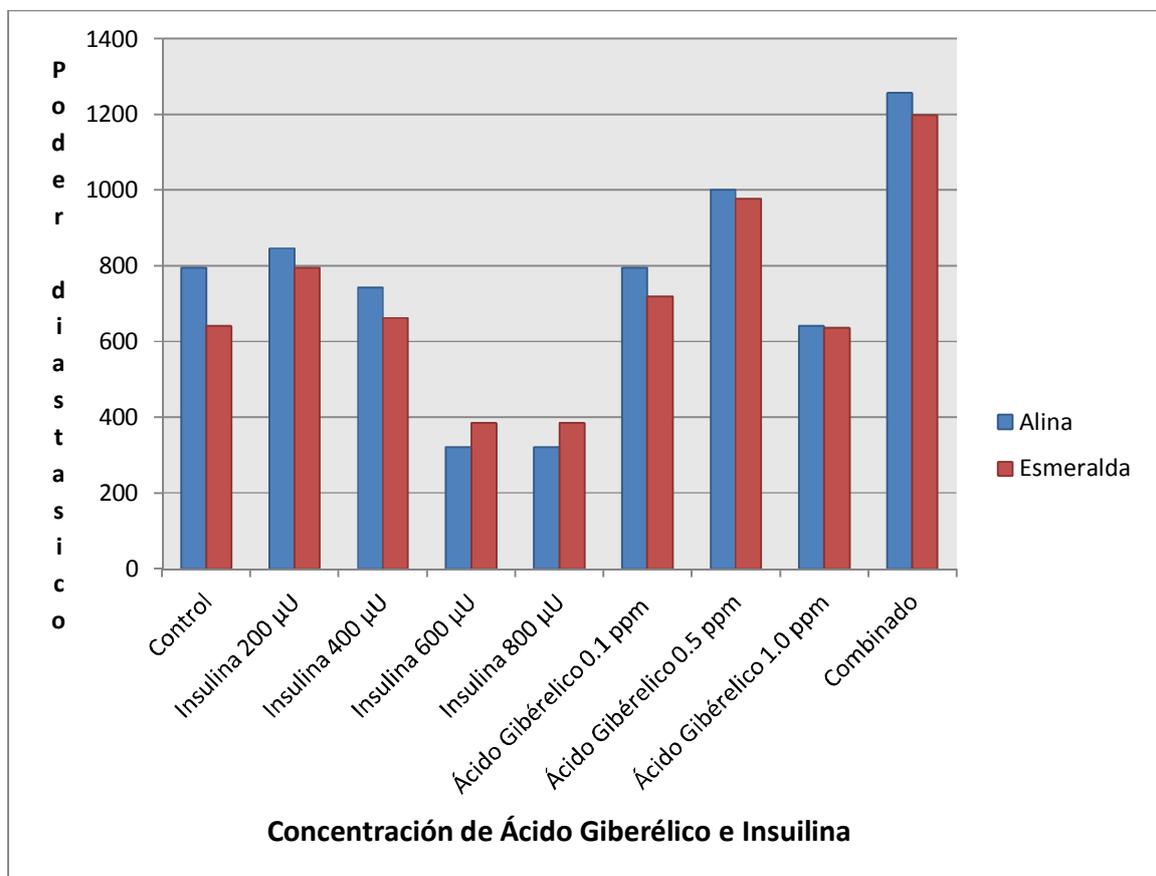
**Gráfica 7.** Poder diastásico en maltas variedades Alina y Esmeralda, tratadas con Ácido Giberélico a 0.5 ppm; Insulina en concentración de 400μU; condiciones de remojo de 72 horas a 18°C, secado de 60°C por 72 horas.

Al comparar los resultados entre los diferentes tratamientos en ambas variedades de cebada se observa y se comprueba otra vez que la adición de ácido giberélico es positiva al poder diastásico de la malta como en el experimento anterior. En cuanto a la adición de insulina solo se favorece al agregarla en el agua de remojo, mientras que en el agua

## Resultados y Discusión

de aspersión se ve afectado el poder diastásico. Al agregar ambas en Esmeralda se ve una sinergia en cuanto al poder diastásico de la malta ya que el valor aumenta hasta 1880mg/mL (Gráfica 7).

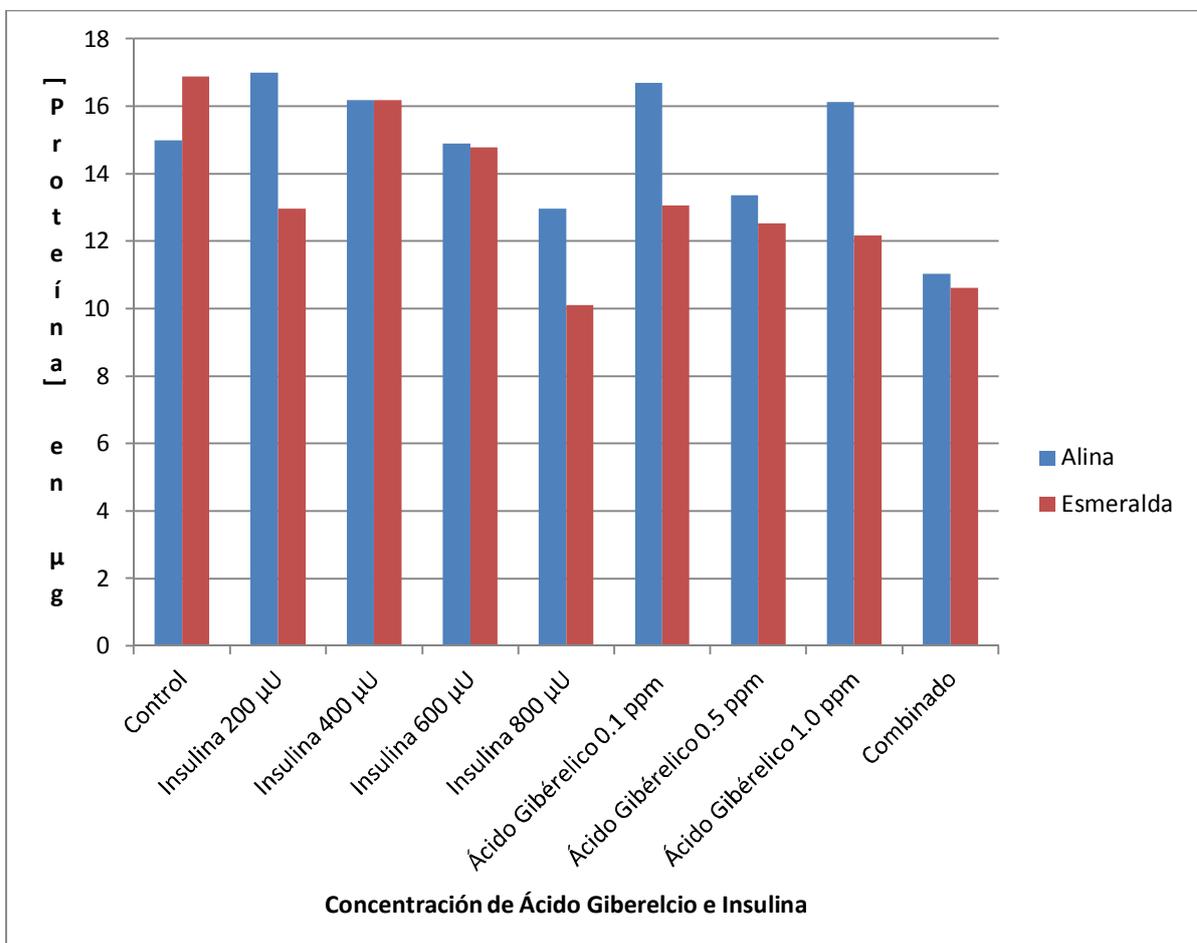
En la variedad Alina, los resultados solo se ven favorecidos positivamente en los tratamientos de Insulina 400 $\mu$ U y ácido giberélico 0.5ppm, a diferencia de Esmeralda no hubo un efecto positivo en la adición de ambos tratamientos (Gráfica 7).



**Gráfica 8.** Poder diastásico por el método Yodométrico en maltas variedades Alina y Esmeralda, tratadas con Ácido Giberélico a 0.1, 0.5 y 1.0ppm; Insulina a 200, 400, 600 y 800 $\mu$ U. Se utilizó 5 mL de muestra, 2.5 mL de yodo, 0.3mL NaOH, 0.45 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y Tiosulfato de sodio 1M. Las muestras se trataron en Baño María a 40°C/ 1hora.

### Nitrógeno y proteínas

En la elaboración de malta para cerveza es importante conocer el porcentaje de proteínas debido a que estas se relacionan con problemas de desestabilización de la espuma en la cerveza, y se disminuye la calidad del extracto cervecero. Los valores de proteína establecidos en Analytica EBC, (2003) están entre 9.05-10.9%.



**Gráfica 9.** Contenido de Proteína en malta de variedades Alina y Esmeralda tratadas con Ácido Giberélico a 0.1, 0.5 y 1.0ppm; Insulina a 200, 400, 600 y 800µU. Se utilizó 5 mL de muestra, 2.5 mL de yodo, 0.3mL NaOH, 0.45 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y Tiosulfato de sodio 1M. Las muestras se trataron en Baño María a 40°C/ 1hora. Usando el reactivo colorante Azul de Coomase Bio-Rad para la cuantificación de Proteína total. Se leen a 595 nm.

Alina presenta altos valores de proteína están por encima de lo establecido por la EBC y Esmeralda se encuentra dentro de los límites requeridos (Gráfica 9). El contenido de proteínas disminuye mientras se incrementan el tiempo y la temperatura en el malteado. Este contenido de proteínas cambia entre las variedades de malta como consecuencia de la capacidad enzimática de cada una de las maltas de variedad Esmeralda. Siendo la variedad Alina la que menos disminuye su contenido de proteína en los diversos tratamientos de ácido giberélico e insulina.

En el caso de la variedad Esmeralda al comparar cualquier tratamiento con el control se observa que el contenido de proteína disminuye en todos los casos, por lo que esta variedad tiene un buen extracto y su tiempo de germinación es el adecuado, ya que un alto contenido de proteína disminuye el extracto y aumenta los tiempos de germinación (Callejo, 2002).

### 6. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

#### 6.1 Conclusiones

Al terminar la parte experimental de la presente investigación se puede concluir lo siguiente:

- En cuanto a la variable días de germinación existió una gran variación de resultados entre los tratamientos y las 2 variedades de cebada utilizadas, las mejores condiciones de germinación para ambas variedades fueron a los 4 días a 16°C.
- El porcentaje de granos germinados para Alina es solo 1% mayor a Esmeralda con un 89% y al hacer la comparación con la Norma ambas variedades de cebada son aptas para ser usadas en malteo, están por encima del valor requerido por dicha Norma, que es de 85%.
- El Ácido Giberélico desencadena las reacciones que intervienen en el procesamiento de germinación, estimulan la producción de  $\alpha$ -amilasa durante la germinación de los granos de cebada. Aumenta el poder diastásico en la malta, lo que indica que es una malta de buena calidad y estimula la síntesis de enzimas digestivas en las semillas.
- Se obtuvieron maltas con humedades suficientes de remojo para lograr una germinación eficiente y tamaño de raicillas adecuados.
- La adición de insulina disminuyó el tiempo de germinación por lo que se obtienen pocas pérdidas de malteado.
- La humedad de secado impidió el desarrollo microbiológico en las maltas obtenidas.
- Ambas maltas tuvieron una cantidad baja de proteínas.

- Solo se vieron favorecidas las semillas tratadas con ácido giberélico para la obtención de un elevado poder diastásico. Las semillas tratadas con insulina solo se vieron favorecidas las de la variedad Alina.

### **6.2 Perspectivas y recomendaciones**

- El manejo de humedad debe ser lo más estricto posible para evitar la sobreacumulación de agua en las bandejas de germinación, así como también evitar zonas de baja concentración de humedad.
- Se sugiere la aplicación de AG<sub>3</sub> en el momento de la germinación de la cebada para incentivar la elongación celular en los diferentes tejidos de la semilla.
- Ubicar nebulizadores en el sistema de riego, para que sea lo más uniforme posible.
- Se debe controlar la adecuada ventilación y temperatura del sitio de producción, la misma que facilitará un adecuado desarrollo de la malta.

### 7. BIBLIOGRAFÍA

1. AACC (2001): *Approved Methods of American Association of Cereal Chemists*. 10a Edition. **Vol II**. St. Paul, Minnesota, USA. Method 46-12.
2. Analytica EBC. European Brewery Convention. (2003). Published by Fachverlang Hans Carl Nürnberg. Germany.
3. **Anderson, Marchington, Zymoscience y Uttoxeter**. (2000). Current practice in malting, brewing and distilling. *Woodhead Publishing*. **Vol. 9**.
4. **Banks, W. y Greenwood, C. T.** (1973). Studies on the biosynthesis of starch granules. *Properties of the starch components of normal barley and barley with starch of high amylose*. **Vol. 25**. pp. 225-230.
5. **Bewley**, 1997. "Germinación y Crecimiento de la planta" Editorial Universidad de Costa Rica.
6. **Bidwell, R.**, (1990) "Fisiología Vegetal", AGT Editor S.A., México, México, 784 pág.
7. **Briggs, D. E.** (1998). *Malts and Malting*. London, Blackie. Technology and Chemist of Master Brewers Association of America.
8. **Calderón Villagomez H., García Cano I. y Guzmán Aguirre S.** Laboratorio de Alimentos I. Facultad de Química, UNAM, México. Procedimientos. pp.33.
9. **Callejo, Gonzalez M. J.** (2002). *Industria de cereales y derivados*. Colección tecnológica de alimentos. AMV Ediciones 1ª edición. Zaragoza España. pp. 169-185.

- 10. Castañeda, F. Xavier et Damm, S. A. (1997).** La cerveza: Historia, fabricación y propiedades. Alimentación. España. pp. 41-48.
- 11. Czuchajowska, Z. Szczodrack, J. y Pomeranz, Y. (1992).** Characterization and estimation of barley polysaccharides by near-infrared spectroscopy. pp. 413-418.
- 12. Doran, P. J., y Briggs, D. E. (1993).** Microbes and grain germination. Journal of the Institute of Brewing. Vol. 99 pp 165-170.
- 13. Fernández, Escartín E. (2000).** Microbiología e Inocuidad de los Alimentos. Universidad Autónoma de Querétaro. México. pp. 295-296.
- 14. Figueroa, Cárdenas J. D. (1985).** Métodos para Evaluar la calidad maltera en cebada. Secretaría de Ganadería y Recursos Hidráulicos. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. México D. F. pp. 30-67.
- 15. Flores V. C. 2004.** La Cerveza en México. Documento inédito. Chapingo México.
- 16. Galán, García D., Oliver, Pujol R. y Estrany, Coda F. (2004).** La cerveza. Alimentación. España. pp. 2-121.
- 17. García, R. J. J. y Gámez, V. F. P. 2002.** Tecnología de producción de semilla de cebada maltera en surcos. Campo Experimental Bajío-INIFAP. Impulsora Agrícola S. A. Fundación Guanajuato Produce A. C. Diciembre 2002.
- 18. Goodman DBP, Davis WL. 1993.** Insulin accelerates the postgerminative development of several fat-storing seeds. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 440-446.

- 19. Hornsey Ian.**, 2003. "Elaboración de cerveza (microbiología, bioquímica y tecnología)" Editorial Acribia S.A. Zaragoza España.
- 20. Hough, J. S.**, 1990. "Biotecnología de la cerveza y de la malta" Editorial Acribia, Zaragoza España. pp. 9-47.
- 21. Huges, P.** (1999). Hydrophobic interactions and their significance for beer foam quality. Proc. European brewery Convention Beer Symposium. Foam Qual. pp. 158-163.
- 22. Huges, P. S. y Wilde, P. J.** (1997). New techniques for evaluation of interactions in beer foams. European. Brewery. Convention. Congress. Pp. 525-534.
- 23. IASA (Impulsora Agrícola S. A. de C.V.)**. 1995. El cultivo de la cebada maltera en temporal. IASA Acarza. México. 42 p.
- 24. Jesper, Pram Nielsen y Lars, Munk.** (2003). Evaluation of malting barley quality using exploratory data analysis. Extraction of the information from micromalting data of spring and winter barley. *Journal of cereal Science*. **Vol. 38**. pp. 173-180.
- 25. Lewis, M. J. y Young, T. W.** (1995). Brewing Chapman and Hall. Londres.
- 26. Linko, M.**, Haikara A. et Ritalia, A. (1998). Recent advances in the malting and brewing industry. *Journal of Biotechnology*. Vol 65. Pp. 85-97.
- 27. López Perea Patricia** (2005). Evaluación de la calidad de diferentes variedades de cebada (*Hordeum sativum jess*) cultivadas en los Estados de Hidalgo y Tlaxcala. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca Hidalgo, México. Pp. 35-88.

- 28. MacGregor, Alexander W y Batty, Rattan S.** (1996). Barley. Chemistry and Technology. American Association of Cereal Chemist, Inc. St. Paul, Minnesota, USA.
- 29. Moreno, M. E.** (1984). Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. Instituto de Biología. UNAM, México
- 30. Muller, R.** (1995). Factors influencing the stability of barley malt. B-glucanase during mashing. *Journal of the American Society of Brewing chemists*. pp. 136-140.
- 31. Norma Mexicana NMX-FF-043-SCFI-2003.** Productos alimenticios no industrializados para consumo humano -cereal- cebada maltera (*Hordeum vulgare L. y Hordeum distichum L.*). Especificaciones y métodos de prueba. Publicada en el diario oficial el 18 de octubre del 2003.
- 32. Pelembre, L.A. M, Dewar, J. y Taylor, J. N. R.** (2002). Effect on malting conditions on pearl millet malt quality. *Journal of the Institute of Brewing*. **Vol. 108**. pp. 13-18.
- 33. Ranki, H.** (1990). Secretion of  $\alpha$ -amylase by the epithelium of barley escutellum. *Journal of Institute of Brewing*. **Vol 96**. pp.307-309.
- 34. Rodríguez-López C.D., Rodríguez-Romero A., Aguilar R. y Sánchez de Jiménez E.** 2011. "Biochemical characterization of a new maize (*Zea mays L.*) peptide growth factor. *Prot. Pept. Lett* 18:1-8
- 35. Ruiz, S. Y.,** 2006 "Elaboración y evaluación de maltas cerveceras de diferentes variedades de cebada (*Hordeum sativum jess*)

producidas en los estados de Hidalgo y Tlaxcala". Tesis de licenciatura, UAE, México.

**36. SAGARPA** (2012). Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Delegación Hidalgo.

**37. Solano Hernández S., Zamora Díaz M., Gámez Vázquez F. P., García Rodríguez J. J., Sánchez de la Cruz R., Ireta Moreno J., Díaz Espino F. y Garza García R.,** 2009, Alina, new malt barley cultivar for the irrigated area in bajo, México. p.p. 467-469.

**38. Sánchez de Jiménez E., Beltrán Peña E. y Ortiz López A.** 1999. "Insulin simulated ribosomal protein synthesis in maize embryonic axes during germination. UNAM. México. pp. 148-154.

**39. Schilbach, R.** 1999. Malting Barley Worldwide. European Brewery Convention. Oxford. Pp. 299-312.

**40. Serna, S. S. R.** 2001. Química e industrialización de los cereales. AGT Editor. México, D. F. pp. 3-23, 47-73 y 79-89.

**41. Skoog, D.; West, D.** 1995. Química Analítica. Ed. Douglas. Sexta edición. México. p 68-69, 78-83, 550-559.

**42. Schwarz, P. B., Schwarz, J. G. y Zhou, A.,** (2001). Effect of *Fusarium graminearum* and *Fusarium poe* infection on barley and malt quality. pp. 55-63.

**43. Ruiz S. Y.** (2006). Elaboración y evaluación de maltas cerveceras de diferentes variedades de cebada (*Hordeum vulgare*) producidas en los estados de Hidalgo y Tlaxcala. Hidalgo, Tesis.

**44. Williams, P. C.** (1985). Application of near infrared reflectance spectroscopy to analysis of cereals grains and oil seeds. *Cereal Chemistry*. pp. 59.

**45. Wolfgang, Voguel.** (1999). Elaboración casera de cerveza, Editorial Acribia S. A. Zaragoza, España. pp. 21-80.

### **Páginas de internet consultadas en este trabajo**

[https://infosiap.siap.gob.mx/index.php?option=com\\_content&view=article&id=286&Itemid=428](https://infosiap.siap.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=286&Itemid=428) (SIACON)

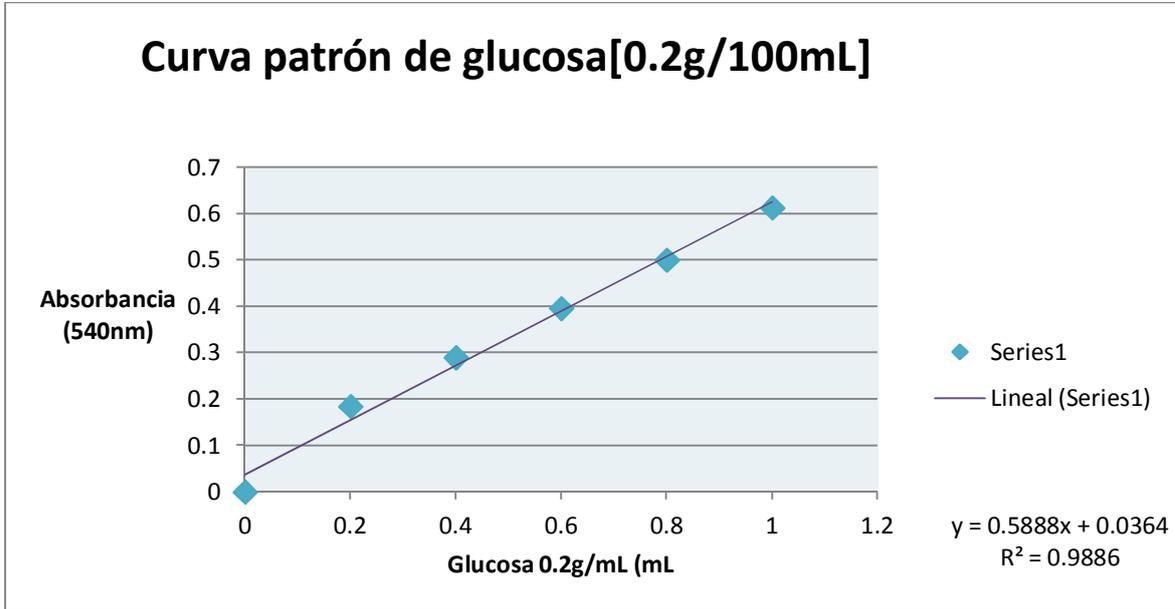
<http://sagarpa.gob.mx/saladeprensa/2012/Paginas/2014B006.aspx>

<https://enbipol.wordpress.com>

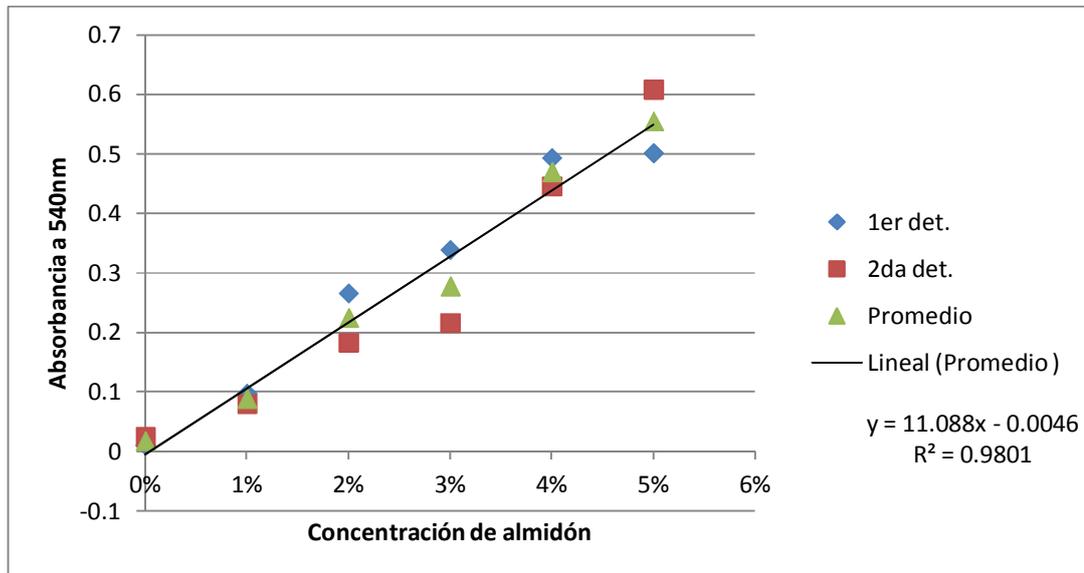
<http://www.fao.org/docrep/006/ad232s/ad232s02.htm>

[http://www.ecologia.unam.mx/laboratorios/dinamica\\_de\\_poblaciones/cacsucmex/cactaceas2007\\_2arti\\_2.pdf](http://www.ecologia.unam.mx/laboratorios/dinamica_de_poblaciones/cacsucmex/cactaceas2007_2arti_2.pdf)

8. ANEXOS

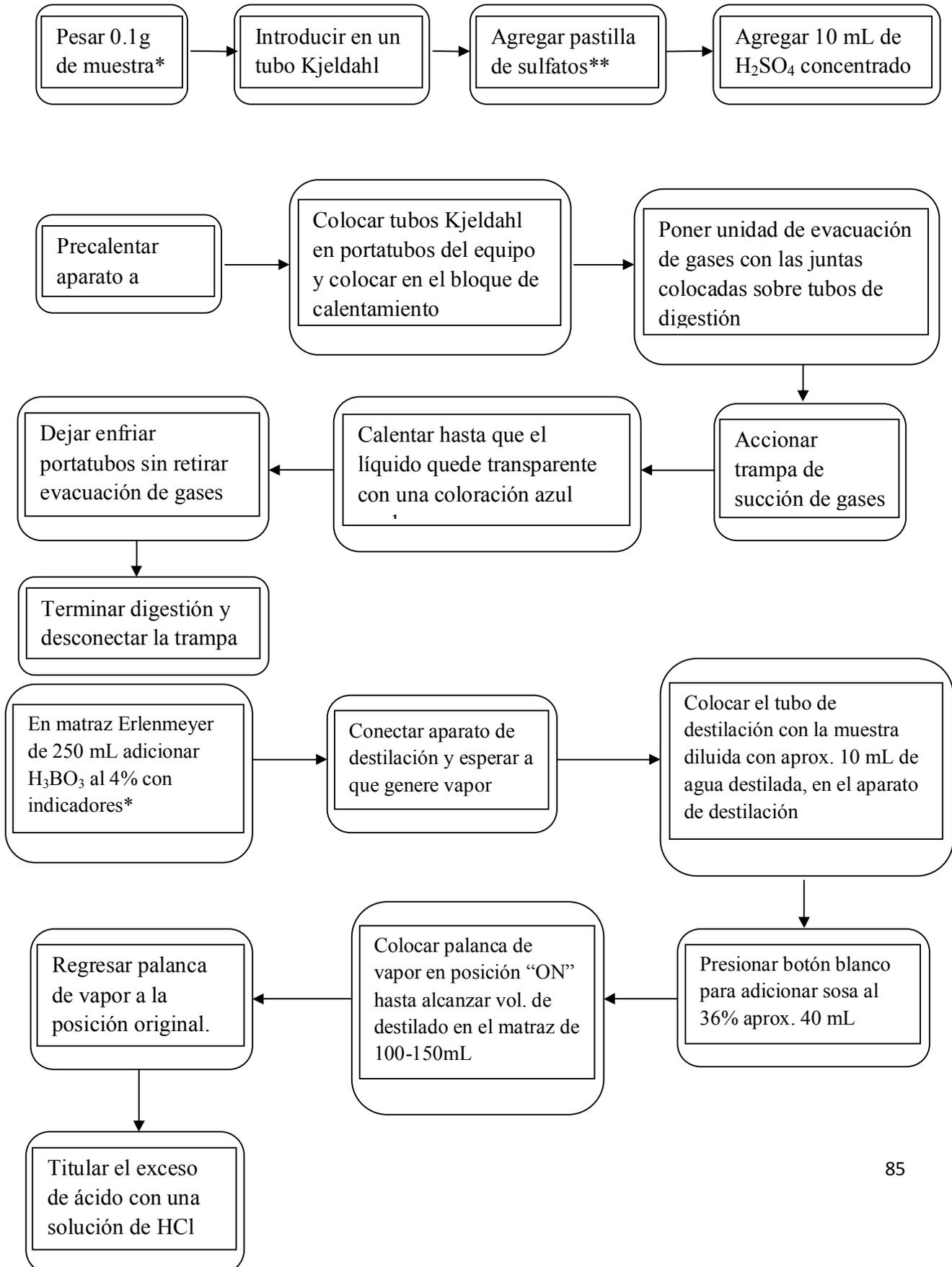


**Gráfica 10.** Curva patrón de glucosa para la cuantificación de azúcares reductores



**Gráfica 11.** Reducción en la concentración de almidón en cebada Esmeralda

**Diagrama 1: Determinación de proteína cruda en cebada por el método de Kjeldahl**



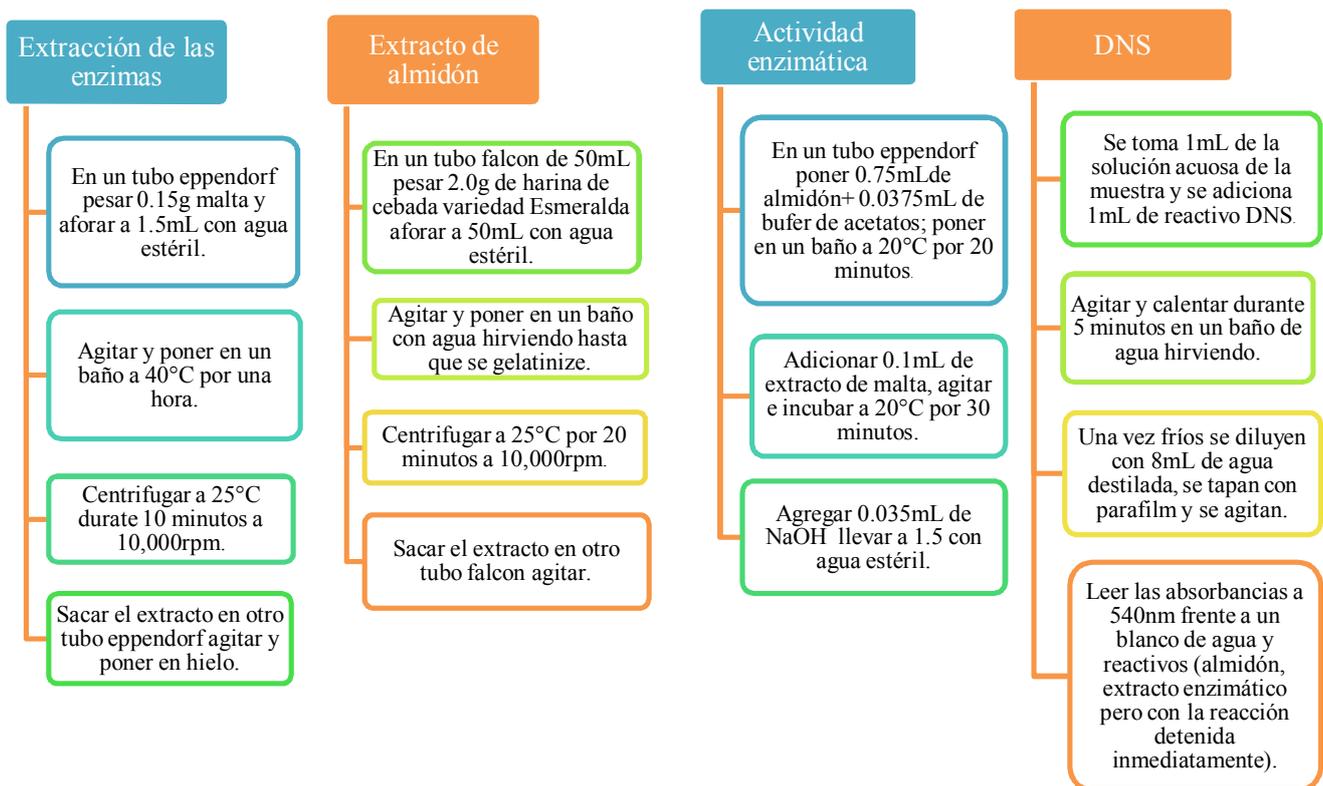
Metodología del Kjeldalh

\*Se pesó la muestra en forma de polvo fino en un papel libre de nitrógeno.

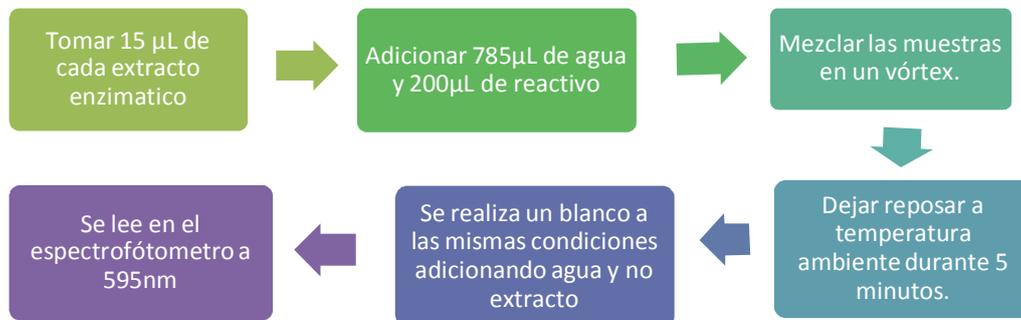
\*\*La pastilla contiene sulfato de cobre pentahidratado y sulfato de potasio o de sodio.

\*en la destilación los indicadores son fenoltaleína 0.035 mg%, rojo de metilo 6.6mg%, verde de bromocresol 3.3 mg%.

**Diagrama 2:** Determinación de azúcares reductores por el método de DNS producidos durante la actividad enzimática amilolítica.



**Diagrama 3:** Procedimiento para determinación de proteína total soluble en granos de cebada. Método de Bradford



Para la cuantificación de proteína total soluble se utilizó como reactivo colorante Azul de Coomase Bio-Rad. (*Bio-Rad, Proteín Assay Dye Reagent Concentrate, Bio-Rad Laboratories Inc.*)