



**EXTRACCIÓN Y REOLOGÍA DE β -GLUCANOS DE CEBADA Y
ELABORACIÓN DE MASAS DE PAN SIN GLUTEN
ENRIQUECIDAS CON LOS EXTRACTOS**

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Curso 2011/12

Alumno: Miguel Rivero Hernández

Tutora: Felicidad Ronda Balbas

Cotutora: Esther Alonso

Máster en Calidad, Desarrollo e Innovación de Alimentos

E.T.S. Ingenierías Agrarias, Campus de la Yutera

Universidad de Valladolid

1.- RESUMEN

El objetivo de este presente estudio es obtener extractos con alto contenido en β -glucanos destinados al enriquecimiento de panes que eliminen la fracción alérgica que afecta a los celíacos. La materia prima utilizada ha sido la cebada H13 tipo waxy, una cebada desnuda, es decir sin cáscara, con un contenido de beta-glucanos del 4,51%, de la que se obtuvieron tres extractos distintos: el primero procedente de la harina integral de la cebada (18,8 % de β -glucanos), el segundo de esa misma harina integral tratada con etanol para inactivar las betaglucanasas (21,5 % de β -glucanos), y el tercero procedente de la fracción gruesa de la molienda pretratada igualmente con etanol (27,4% de β -glucanos). A partir de estos 3 extractos se llevaron a cabo disoluciones acuosas a distintas concentraciones (3, 5, 7 y 9%) y se estudió su reología a través de ensayos de flujo y ensayos oscilatorios de esfuerzo y frecuencia, observándose en los primeros que los extractos 2 y 3 se comportan como pseudoplásticos y el extracto 1 como newtoniano, y en los segundos, es decir, en los ensayos oscilatorios, que los tres extractos se comportan como un sólido viscoelástico (gel), pasando a comportarse como un líquido viscoelástico a bajas frecuencias. Como segunda fase del estudio, los tres extractos obtenidos se añadieron también a masas de pan estudiándose reológicamente sus características para ver la viabilidad de dichas masas como sustitutivas de otras con gluten, observándose un aumento de los módulos viscoelásticos respecto a la masa control, aunque sin conseguir los niveles de consistencia que se alcanzan con otros sustitutivos.

ABSTRACT

The objective of this study is to obtain extracts with high content of β -glucan enriched breads intended to eliminate allergenic fraction affecting celiacs. The raw material used was the waxy barley H13 type, a naked barley, ie shelled, with a beta-glucan content of 4.51%, which were obtained from three different extracts: the first coming from the barley flour (18.8% of β -glucans), the second of the same flour treated to inactivate betaglucanasas ethanol (21.5% of β -glucans), and the third from the coarse fraction of the equally pretreated with ethanol milling (27.4% of β -glucans). From these 3 extracts were conducted aqueous solutions at different concentrations (3, 5, 7 and 9%) and rheology was studied through testing assays oscillatory flow and effort and often first observed in the 2 and 3 extracts behave as pseudoplastic and 1 as Newtonian extract, and in the second, ie oscillatory tests in which the three extracts behave as a viscoelastic solid (gel), passing to behave as a viscoelastic fluid low frequencies. As a second phase of the study, three extracts obtained were also added to bread doughs studied characteristics rheologically to see the viability of such bodies with gluten

substitute other, with an increase of the modules for mass viscoelastic control, although without achieve consistency levels are reached with other substitutes.

2.- ANTECEDENTES

La importancia de los β -glucanos, más concretamente de los extraídos de la cebada, viene dada por sus efectos beneficiosos para la salud, como corroboran la FDA, la EFSA y numerosos estudios científicos. Además, uno de sus puntos fuertes, es que pueden ser utilizados para sustituir al gluten en la elaboración de productos de panadería aptos para celíacos.

La cebada (*Hordeum vulgare*) es una planta de la familia de las poáceas. Es un cereal, al igual que la avena, el arroz, el trigo o el maíz. Tradicionalmente se ha utilizado para alimentar animales, bien sea a través de piensos o con el grano directamente.

Existen muchas variedades de cebada. Todas ellas se caracterizan por presentar tallos huecos en forma de caña que nacen de raíces fasciculadas. Al final de cada tallo, se desarrolla una inflorescencia en forma de espiga donde se formaran los granos de cebada o semillas. La espiga consta de un eje principal o raquis sobre las que se distribuyen lateralmente las espiguillas que nacen directamente del raquis, según el número de espiguillas que permanece en la espiga después de madurar se clasifican los distintos tipos de cebadas.

Dentro de la cebada, según el número de espiguillas, las diferentes variedades se clasifican en:

- Cebada de dos carreras o cebada cervecera (*Hordeum distichum*): es aquella en que, después de madurar la espiga, solamente queda la espiguilla central.
- Cebada de seis carreras o cebada caballar (*Hordeum distichum*): es aquella en que, después de madurar la espiga, se mantienen las tres espiguillas.
- Cebada de cuatro carreras (*Hordeum tetrastichum*): es aquella en que, después de madurar la espiga, se mantienen las dos espiguillas laterales después de desaparecer la central.

Según si las semillas están o no protegidas, clasificamos las variedades de cebada en:

- Cebada con la semilla protegida: la semilla está cubierta por la lema y la palea. Es la variedad utilizada para la fabricación de la cerveza o para el consumo animal.
- Cebada con la semilla desnuda: la semilla no está cubierta por la lema y la palea. Son variedades que han evolucionado para ser utilizadas en la fabricación de productos para el consumo humano (panes, pastas, etc).

La cebada, al igual que el resto de los cereales, es un alimento que proporciona una gran energía (354 kcal/100g). El poder energético de la cebada procede principalmente de su riqueza en hidratos de carbono (76, 38 %). Comparado con otros cereales, posee más hidratos que el maíz (74,2 %), que el trigo (68, 3%) o que la avena (66, 27 %), aunque un poco menos que el arroz integral (77, 24 %). La cebada es rica en azúcares o hidratos de carbono complejos, principalmente almidón y celulosa y cantidades menores de maltosa y rafinosa. En proporciones menores, contiene también hidratos de carbono simples, como fructosa y glucosa y otros azúcares. Además contiene beta (1,3) (1,4) glucanos localizados en el endospermo del grano.

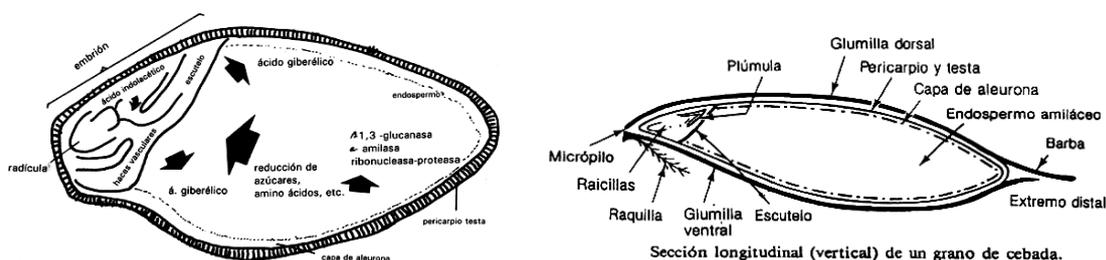


Figura 1. Interior del grano de cebada

Características de los β -glucanos.

Los β -glucanos son polisacáridos no amiláceos compuestos de enlaces (1,3) y (1,4) de glucosa. Están localizados mayoritariamente en las paredes celulares del endospermo y en la capa de aleurona de los diferentes granos de cereales, especialmente cebada y avena. Están formados por cadenas de unidades de D-glucosa con enlaces glucosídicos tipo beta. Estos anillos D-glucosa de seis caras pueden ser conectados unos a otros, en una variedad de posiciones en la estructura del anillo de D-glucosa. Algunos compuestos de β -glucano, se repiten continuamente debido a la unión de D-glucosa en posiciones específicas.

La forma más activa de los β -glucanos son los que integran unidades de D-glucosa unidas unas a otras en la posición (1,3).

Los β (1,3) (1,4) glucanos también son extraídos de los salvados de algunos granos como la avena y cebada, y en un grado menor en el centeno y el trigo. La versión beta (1,3) D-glucanos de la levadura son a menudo insolubles. Las que se extraen de los granos tienden a ser tanto solubles como insolubles. Otras fuentes incluyen algunos tipos de algas y varias especies de hongos.

Su tamaño molecular y su concentración, así como sus características moleculares, son variables importantes en la determinación de las propiedades físicas de los polímeros resultantes, tales como solubilidad, viscosidad y capacidad de formación de gel (Skendi et al., 2003); (Vaikousi et al., 2004).

Su uso comercial está orientado a sustituir grasas y a modificar la textura de los productos alimenticios.

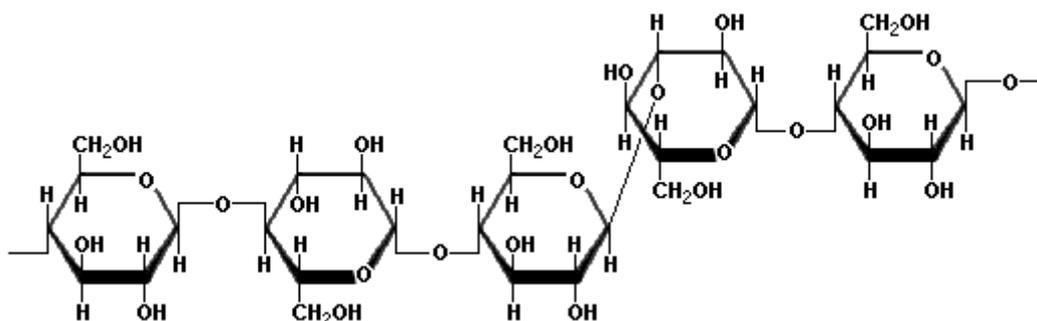


Figura 2. Estructura química de los β -glucanos, con un enlace 1,3, cada tres enlaces 1,4.

Efectos de los β -glucanos sobre la salud

En general los β -glucanos son un componente importante de la fibra alimenticia soluble, con gran influencia en los valores nutricionales y propiedades funcionales de la comida. En ese sentido, numerosos estudios (Newman et al., 1989) han revelado que los β -glucanos están relacionados con las propiedades hipocolesterolémicas de la avena y la cebada, y de los alimentos que contienen estos granos, a través de la disminución de la absorción intestinal de colesterol y ácido bílico por su interacción con los glucanos; la actuación en el hígado, que pasa de sintetizar colesterol a producir ácido bílico; y la fermentación por las bacterias intestinales a ácidos grasos de cadena corta que son absorbidos e inhiben la síntesis de colesterol hepático. Más aún, los beta-1,3 glucanos mejoran las defensas del sistema inmunológico humano contra invasores externos optimizando la habilidad de macrófagos, neutrófilos y otras células asesinas para responder y combatir un amplio rango de amenazas tales como bacterias, virus, hongos y parásitos. Por último, existe un renovado interés en la utilidad potencial de los β -glucanos como droga radioprotectora en quimioterapia, terapia de radiación y emergencias nucleares, sobre todo porque los glucanos pueden usarse no sólo como tratamiento sino también como profiláctico (Rondanelli et al., 2009).

Recientemente, la FDA (Food and Drug Administration, USA) ha incluido los β -glucanos en la lista de productos que contribuyen a una disminución del colesterol en la sangre, estableciendo también el protocolo de etiquetado de los productos que contienen estos polímeros buscando resaltar sus efectos positivos sobre la salud humana (Baik and Ullrich, 2008). Por su parte, la EFSA también ha publicado sus propias conclusiones acerca de los efectos beneficiosos de los β -glucanos sobre la salud, que serían el mantenimiento de unos niveles normales de concentración de colesterol-LDL en la sangre, un incremento de la sensación de saciedad que conlleva

una reducción en la ingesta de energía, con una reducción de las respuestas glucémicas postprandiales, y con una mejora de la función digestiva (EFSA Journal 2011).

Una ingesta abundante de fibra cereal (o de todo el grano) también parece disminuir el riesgo de enfermedades coronarias, de diabetes (Lu et al., 2004) y cáncer (Han et al., 2004).

Contenido de β -glucanos en otros cereales: la avena

Análisis químicos de granos de avena comerciales (n=10) seleccionados de cinco países diferentes muestra variaciones en el contenido de almidón (40% – 61%), proteína cruda (9,6% - 21%), grasa cruda (8,2% - 12%), ceniza (2% - 4,1%), fibra dietética (10,7% - 19,4%) y enlaces mixtos de β -glucanos (4,7% - 8,3%). Ha sido encontrada una correlación significativa entre los contenidos de enlaces mixtos de β -glucanos totales y extraíbles (Luharoo et al.).

Sistemas de extracción de β -glucanos

En tanto que los β -glucanos son un componente menor (3-7%) de los granos de cebada se hace necesario desarrollar un procedimiento para su aislamiento y concentración. Aunque la cantidad de procedimientos recogidos sobre el tema es abundante, se pueden agrupar en dos categorías como sugieren *Vasanthan and Temelli (2008)*: aquellos experimentos realizados en condiciones de sequedad y aquellos realizados en condiciones de humedad. Las tecnologías de procesamiento en seco incluyen la molienda y la criba en seco (*Kiryuk et al., 2000*), alcanzando un producto final que contiene un 15,2% de β -glucanos como máximo. Los procedimientos húmedos son más complejos, pues incluyen al menos 2 o 3 etapas (*Brennan and Cleary, 2005*): el salvado de cereal o la harina se usa como material de partida, al cual se añade un solvente (normalmente agua, solvente acuoso de pH básico o solución semi-alcohólica) obteniéndose como resultado un extracto acuoso. Este extracto acuoso contiene otros elementos además de β -glucanos (tales como almidón, proteínas y grasas), que hacen necesario un proceso de purificación. Con este propósito, los β -glucanos son precipitados por adición de un alcohol que actúa como antisolvente o bien separados por otros procedimientos, por ejemplo congelación y descongelación del extracto (*Morgan, 1998*), el precipitado obtenido, una vez aislado y secado, da como resultado un producto que contiene del 20 al 70 % de β -glucanos.

De acuerdo con la literatura sobre el tema, atendiendo a la temperatura, el pH, el tiempo de extracción y el solvente: la proporción de harina y el solvente han sido identificados como los parámetros clave a la hora de realizar una extracción de β -

glucanos. En la mayoría de los trabajos la distribución del tamaño de partícula de harina no ha sido tomada en cuenta, y el efecto del índice de removido no ha sido estudiado (Benito-Román et al., 2011).

Propiedades físicas

1. Solubilidad: comportamiento de la solución.

Los rasgos químicos de los β -glucanos del cereal se reflejan por su solubilidad en el agua y su extensa y flexible conformación en cadena (Woodward et al., 1983b). Los segmentos como de celulosa de los β -glucanos del cereal podrían contribuir a la rigidez de las moléculas de una solución (Varum and Smidsrod, 1988); los β -glucanos que contienen secciones de enlaces adyacentes b-(1-4) pueden mostrar una tendencia a la coagulación (por lo tanto una menor solubilidad) por la unión del hidrógeno con la celodextrina. Los enlaces b-(1-3) interrumpen la homogeneidad de la secuencia de los enlaces b-(1-4), haciendo la molécula más soluble y flexible. (Buliga et al., 1986).

2. Fenómenos de agregación: gelación.

Aunque las nuevas soluciones de β -glucanos del cereal pueden ser categorizadas reológicamente como polisacáridos tipo espiral aleatoria, sus propiedades reológicas pueden cambiar dependiendo de sus características moleculares (tamaño y estructura), tiempo de almacenamiento (es decir, tiempo de espera antes de un análisis) e historial térmico (Bohm and Kulicke 1999a, Gomez et al., 1997c; Lazaridou et al., 2003, 2004; Tosh et al., 2003; Vaikousi et al., 2004). Los β -glucanos del cereal con unos ciertos rasgos estructurales pueden mostrar un comportamiento reológico dependiente del tiempo como a menudo se ha revelado en experimentos de bucle tixotrópico insinuándose una formación de redes intermoleculares dependiente del tiempo. Así, con el incremento del tiempo de almacenamiento, las soluciones de β -glucanos muestran un inusual comportamiento de flujo pseudoplástico a índices bajos de cohesión. Este comportamiento resulta más pronunciado con el incremento de la concentración de polisacáridos y el tiempo de almacenamiento previo al testado reológico, lo mismo que para los β -glucanos con bajo peso molecular y proporciones altas de unidades de cellotriosyl en las cadenas de los polímeros (Lazaridou et al., 2003, 2004; Vaikousi et al., 2004).

2.1. Reometría dinámica

La capacidad de gelación de las dispersiones acuosas de los cereales β -glucanos que difieren en su talla molecular y en su estructura ligera, ha sido controlado isotérmicamente mediante reometría dinámica a diferentes temperaturas por encima 0 °C y concentraciones polímeras (Irakli et al., 2004; Lazaridou et al., 2003, 2004; Li et

al., 2006; Skendi et al., 2003; Vaikousi et al., 2004). Después de un periodo de inducción, G' y G'' aumentan con el tiempo y las dispersiones acuosas comienzan a adoptar cualidades de gel ($G' > G''$). El ritmo de gelación también se incrementa con un aumento de la concentración y un aumento de la temperatura de formación del gel, alcanzando un máximo a 25-35 °C. A temperaturas mayores los valores de la IE descienden (Lazaridou et al., 2003, 2004; Skendi et al., 2003; Vaikousi et al., 2004).

La formulación de los alimentos causa también un impacto en la habilidad de gelación y en las propiedades reológicas de los geles de los cereales β -glucanos (Irakli et al., 2004; Lazaridou and Biliaderis, 2007; Lazaridou et al., 2007; Vaikousi and Biliaderis, 2005). La incorporación de varios azúcares (glucosa, fructosa, sacarosa, xilosa y ribosa) en una concentración del 30% (w/v) en dispersiones acuosas del betaglucano de la cebada (6% w/v) conduce a un incremento del tiempo de gelación a temperatura ambiente (Irakli et al., 2004).

2.2. Compresión uniaxial

Una variación en las propiedades mecánicas de los geles de los cereales β -glucanos se ha revelado asimismo en los test de compresión por alta deformación. En cuanto a las muestras de gel formadas a temperatura ambiente, se constata un aumento en la fuerza y un descenso en la fragilidad tras un incremento de la concentración y del peso molecular del polisacárido (Lazaridou et al., 2003, 2004; Vaikousi et al., 2004).

Efectos en panificación

Los β -glucanos se pueden utilizar como agentes espesantes para modificar la textura y la apariencia en las formulaciones alimenticias y también como sustituyentes de la grasa en el desarrollo de alimentos bajos en calorías. De hecho, las fracciones ricas en β -glucanos de cereales o β -glucanos purificados se han incorporado con éxito a productos como los cereales de desayuno, pasta, fideos y bollería, así como carne y otros productos de uso diario (Anonymous, 2003; Cavallero et al., 2002; Dexter et al., 2004; Duss and Nyberg, 2004; Hatcher et al., 2005; Hudson et al., 1992; Inglett, 1990; Izydorczyk et al., 2005; Knuckles et al., 1997a; Marconi et al., 2000; Morin et al., 2002; Newman et al., 1990, 1998; Oste Triantafyllou, 2002; Volikakis et al., 2004).

Tras establecer estos antecedentes generales y descendiendo al campo concreto en el que se centra mi estudio, la panadería, podemos decir que, tradicionalmente, la cebada no ha sido utilizada en productos panaderos ya que carece de las proteínas del gluten y los productos finales tienen pobres cualidades sensoriales (Bhatty, 1999). Además, estudios anteriores realizados por Pomeranz, Shogren, Finney, y Bechtel

(1977), demostraron que la adición de materiales de fibra provenientes de la harina de trigo (con el fin de solucionar el primero de los problemas) debilita la estructura celular de la miga, debido al debilitamiento de la red de gluten, mientras que Dubois (1978) hizo hincapié en que, especialmente las fracciones insolubles en agua, ponen en peligro la retención de gas en la masa, cambiando, por lo tanto, la textura y apariencia del producto horneado. No obstante, estudios más recientes han demostrado que las fracciones de cebada enriquecida en β -glucanos mezcladas con harina de trigo, puede producir pan con aceptables propiedades sensoriales (Cavallero et al, 2002; Knuckles et al., 1997). Wang, Miller, y Hoseney (1998) demostraron, por su parte, que los β -glucanos pueden mejorar la estructura de la miga de los panes de trigo y no afecta en gran medida al volumen de pan. Sin embargo, Gill, Vasanthan, Ooraikul y Rosnagel (2002) e Izydorczyk y Dexter (2008) evidenciaron una reducción del volumen de la hogaza con la adición de las fracciones de la cebada.

A la vista de todo esto y ante el hecho de que con carácter general el consumo de β -glucanos a partir de productos panaderos sigue siendo relativamente bajo, el desarrollo de panes enriquecidos en este elemento, ya sea mediante la incorporación de granos con fracciones ricas en el mismo o concentrados de β -glucanos, se ha convertido en un reto para la industria panadera, interesada en mejorar nutricionalmente sus productos a la vez que se mantienen la calidad organoléptica, marco en el cual se sitúa mi estudio, basado en la experimentación con masas elaboradas con harina de arroz, para evitar la formación de la red de gluten, y con un añadido de β -glucanos para conseguir en dicha masa y en el producto final unas características similares a las que proporciona el gluten en masas de trigo.

3.- OBJETIVOS

El objetivo principal es obtener un extracto con alto contenido en β -glucanos para utilizarse en enriquecimiento de panes sin gluten que eliminen, desde el extracto en forma acuosa, la fracción alergénica para los celíacos. Las etapas para su consecución fueron:

- Conseguir extractos concentrados de β -glucanos de cebada con distintos Pesos Moleculares que aporten diferentes funcionalidades para los distintos alimentos.
- Caracterizar las propiedades químicas y reológicas de los extractos.
- Estudiar el comportamiento de masas de pan sin gluten enriquecidas con extractos de alta concentración de β -glucanos.

4.- MATERIALES Y MÉTODOS

4.1.- Materiales.

Para este trabajo se usó cebada tipo waxy. La variedad H13 (conocida comercialmente como GALIS) es una cebada desnuda (sin cáscara) con un contenido de beta-glucanos de 4,51% y 50,2% de almidón.

Esta cebada fue facilitada por el ITACyL (Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León; Valladolid, España), seleccionada de un gran número de variedades que han sido cultivadas en Castilla y León. Esta variedad H13 corresponde a una modificación genética y cruzamiento de las variedades MERLIN y VOLGA, pertenecientes a la cosecha 2008.

β -glucano comercial suministrado por Cargill (Mechelem, Belgium).

Masas de pan libres de gluten enriquecidas con β -glucanos: la formula usada para la preparación de las masas de pan fue: 150 g de harina de arroz NPU suministrada por Herba Ricemills (Sevilla, España), 135 g de agua (90 %), 9 g de aceite (6 %), 3 g de sal (2 %), 7,5 g de azúcar (5 %) y 4,5 g de β -glucano (3 %). Se prepararon masas de pan con cada uno de los tres extractos obtenidos y con el extracto comercial. Se procedió a la mezcla de todos los ingredientes en el recipiente durante 8 minutos a velocidad 8 en amasadora Kitchen – Aid Professional (KPM5).

Posteriormente se realizaron las medidas reológicas de cada una de las masas preparadas.

4.2.- Procedimiento de extracción

El procedimiento de extracción pasa por las siguientes etapas, tal y como se muestra en la figura 3.

Molienda: Para los extractos 1 y 2 se utilizó molino de cuchillas de laboratorio de Braun (molino 1) en el que se molió el grano entero de cebada y se obtuvo la harina integral. Y para el extracto 3 se utilizó un molino Chopin (Francia) (molino 2) del que nos quedamos con la fracción gruesa de la molienda y desechamos el resto. La cebada tenía inicialmente una humedad del 10,27 % y se acondicionó hasta el 12,5 % para mejorar la molienda en el molino 2. Para el extracto 1 se procedió directamente a la extracción, y para los extractos 2 y 3 antes se inactivaron las β -glucanasas mediante aplicación de temperatura en medio alcohólico.

Para la inactivación de las β -glucanasas se sometió a la cebada molida a ebullición con reflujo total de etanol en un montaje de vidrio de la casa Afora (España) formado por balón de 1000 ml, manta calefactora y condensador. Primero se añadió el etanol al 80% (288 ml. de etanol y 72 ml. de agua destilada) y se calentó hasta los 60°

C, una vez alcanzada la temperatura se añadieron 60 gr. de cebada molida y se dejó en reflujo durante 2 horas. Transcurrido este tiempo se dejó enfriar y se filtró a vacío. La parte líquida, el etanol, que ha conseguido la inactivación de las β -glucanasas, es desechada y con ella se desechan también las proteínas solubles en alcohol. La parte sólida, la cebada, se secó en estufa a 100° C durante 1 o 2 horas y se molió de nuevo (molino 1) para homogeneizar el tamaño de partícula. De los 60 g de partida se obtienen 53 g de cebada tratada.

Se eliminaron también mediante este método las hordeínas presentes en la cebada que son alérgicas para celíacos.

En cada extracción se pusieron en contacto 40 gr. de cebada molida con 500 ml. de agua destilada en un extractor de tanque agitado encamisado (1 L, Afora, España). La temperatura se mantuvo constante mediante baño caliente (Lauda Ecoline Staredition E100, Lauda, Alemania). La agitación se mantiene a 57° C durante 3 horas en agitador mecánico (Heidolph RZR2021 stirrer, Alemania) para llevar a cabo la extracción. Una vez obtenida la disolución se centrifugó (Kubota 5100, Japón) a 5000 rpm durante 8 min. y se consiguió la separación de la parte sólida de la líquida. Nos quedamos con la parte líquida que es en la que los β -glucanos de la cebada se han disuelto.

Se realizó el secado de la parte líquida obtenida en el paso anterior para obtener los extractos 1, 2 y 3 en forma de polvo con una granulometría homogénea. El secado se realizó en secadero por spray (Gea Niro Mobile Minor Mm - Basic-Psr) con una temperatura de entrada de aire de 160° C y una temperatura de salida de 86 °C \pm 0,5. La velocidad de flujo del líquido de 0,8 a 0,9 l/h con una velocidad del rotor de 25.000 rpm y 3 bar de presión.

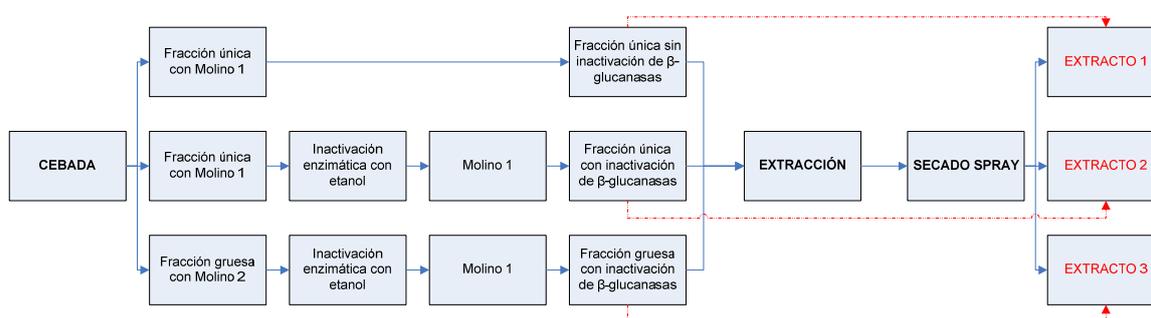


Figura 3. Esquema de las etapas del procedimiento de extracción de β -glucanos

No se realizó la purificación para la eliminación de almidón ya que para el uso pretendido de realizar masas de pan, estas ya tienen otras fuentes de almidón, por lo que no fue necesario quitar el almidón de los extractos.

4.3.- Métodos analíticos.

Se determinó la cantidad de β -glucanos y de almidón presentes en cada una de las tres fracciones de harina molida y en cada uno de los extractos, incluido el β -glucano comercial de Cargill. Esta cuantificación se realizó mediante los kit enzimáticos “Mixed-linkage β -glucan” y “Total Starch”, respectivamente, ambos suministrados por Megazyme International Ltd. (Ireland).

El Peso Molecular de cada extracto y del β -glucano de Cargill se determinó mediante Cromatografía de Exclusión por Tamaño (HPLC-SEC) usando sistema cromatográfico consistente en bomba isocrática (Waters 1515), un inyector automático (Waters 717), columna de protección (Waters Ultrahydrogel Guard Column) y columna GPC (Waters Ultrahydrogel 1000) y un detector de índice de refracción diferencial (Waters 410). La columna se mantuvo a 35 °C, y caudal de la fase móvil (0.1 M NaNO_3 + 0.02% NaN_3) se fijó a 0.6 ml min^{-1} . El estándar para la determinación del Peso Molecular se obtuvo de Megazyme International Ltd. (Ireland). El intervalo de Peso Molecular obtenido de los extractos es 27-300 kDa, como se puede observar en Tabla 3 del apartado de resultados.

4.4.- Métodos reológicos.

Se realizaron ensayos reológicos de flujo y oscilatorios tanto de suspensiones acuosas de los extractos de β -glucano obtenidos como de masas de pan sin gluten enriquecidas con β -glucanos.

La disolución de cada uno de los extractos de β -glucanos, incluido el de Cargill, se preparó en agua destilada a cuatro concentraciones diferentes (3%, 5%, 7% y 9 %). Se puso el agua destilada en un recipiente y se calentó hasta alcanzar la temperatura deseada, una vez conseguida está temperatura se fueron añadiendo, en agitación constante, poco a poco los extractos de β -glucanos hasta conseguir la completa disolución.

Las disoluciones se midieron en Reometro Rheostress 1 con baño (Thermo Haake C25P, Karlsruhe, Alemania). Con placas PP35 Ti y cilindros Z34Din Ti para el caso de las disoluciones del extracto 1 debido a que estas presentaban una consistencia bastante líquida. Para todas las muestras medidas se quitó el exceso de la disolución y se aplicó aceite de vaselina para cubrir la superficie expuesta.

Los ensayos de Flujo se realizaron con una variación del gradiente de velocidad, γ , entre 0,01 s^{-1} y 1000 s^{-1} y con doble ciclo, ascendente y descendente, para poder evaluar la dependencia con el tiempo del comportamiento reológico. Se trabajó a

temperatura constante de 20 °C y un tiempo de espera del reometro antes de la medición de 300 s para permitir la relajación de la disolución.

Los barridos de esfuerzo de los ensayos oscilatorios, se realizaron con control de esfuerzo logarítmico entre 0.1 y 10 Pa a una frecuencia de 1 Hz, todo ello a temperatura constante de 20 °C y un tiempo de espera del reometro antes de la medición de 300 s para permitir la relajación de la disolución.

Los barridos de frecuencias se llevaron a cabo entre 20 Hz y 0,1 Hz siempre en la zona viscoelastica lineal al esfuerzo establecido según el barrido de esfuerzos. Todo ello a una temperatura constante de 20 °C y un tiempo de espera del reometro antes de la medición de 300 s para permitir la relajación de la disolución. Con los ensayos oscilatorios se obtuvieron el módulo de almacenamiento, G' , relacionado con el carácter elástico del producto y el Módulo de Pérdida, G'' , relacionado con el carácter viscoso.

Las mediciones reológicas de las masas se hicieron en placas ranuradas PP60 Ti. Los ensayos de flujo se realizarón con una variación del gradiente de velocidad, $\dot{\gamma}$, entre $0,01 \text{ s}^{-1}$ y 5 s^{-1} , todo ello dejando una ranura de 3 mm, a temperatura constante de 25 °C y un tiempo de espera del reometro antes de la medición de 300 s para permitir la relajación de la masa.

Los barridos de esfuerzos de los ensayos oscilatorios se realizaron con control de esfuerzo logarítmico entre 0,1 Pa y 100 Pa a una frecuencia de 1 Hz, todo ello dejando una ranura de 3 mm, a temperatura constante de 25 °C y un tiempo de espera del reometro antes de la medición de 300 s para permitir la relajación de la masa.

Los barridos de frecuencias se llevaron a cabo entre 100 Hz y 0,1 Hz siempre en la zona viscoelastica lineal al esfuerzo establecido según el barrido de esfuerzos. Todo ello dejando una ranura de 3 mm, a temperatura constante de 25 °C y un tiempo de espera del reometro antes de la medición de 300 s para permitir la relajación de la masa.

Las curvas de flujo obtenidas de la caracterización reológica se ajustan por mínimos cuadrados a la ley de la potencia o Modelo de Ostwald-de-Waele:

$$\sigma = K \cdot \dot{\gamma}^n$$

Donde, K ($\text{Pa} \cdot \text{s}^{+n}$) es el índice de consistencia, y n (*adimensional*) el índice de flujo.

Las curvas obtenidas en los barridos de frecuencia también se ajustaron por mínimos cuadrados a la ley de la potencia:

$$G'(\omega) = G'_{\omega 1} \cdot \omega^a$$

$$G''(\omega) = G''_{\omega 1} \cdot \omega^b$$

$$\tan \delta(\omega) = G''_{\omega} / G'_{\omega} = (G'' / G')_{\omega 1} \cdot \omega^c = (\tan \delta)_{\omega 1} \cdot \omega^c$$

Los coeficientes $G'_{\omega 1}$, $G''_{\omega 1}$ y $(\tan \delta)_{\omega 1}$ representan los módulos de elasticidad y viscosidad y la tangente de pérdida a una frecuencia constante de 1 Hz. Los exponentes a, b y c el grado de dependencia de esos módulos y de la tangente de pérdida con la frecuencia de oscilación (Ronda et al. 2011).

4.5.- Determinación de la humedad de harinas y extractos

La humedad se determinó para proporcionar los resultados de pureza expresados en peso seco. Se realizó mediante un método rápido, usando una Termobalanza Sartorius Moisture Analyzer MA 150 y empleando 2 g de harina o extracto, que se calentó hasta 130 °C.

5.- RESULTADOS

El Anexo I, recoge el conjunto de gráficas obtenidas con el análisis reológico.

5.1.- Caracterización de las materias primas y de los extractos.

Se partió de 3 harinas, una primera harina integral procedente de la molienda (molino 1) de la cebada. La segunda de las harinas fue harina integral procedente de la molienda (molino 1) tratada con etanol para inactivar las β -glucanasas. Y la tercera de las harinas fue la fracción gruesa procedente de la molienda (molino 2) e inactivada enzimáticamente con etanol. En la tabla 1 se recogen las características de la materia prima usada para obtener los extractos ricos en β -glucanos, después de la molienda y tratamiento de inactivación de las β -glucanasas. De estas tres harinas, aplicando el procedimiento de extracción descrito en la figura 3 se obtuvieron tres extractos finales. Estos extractos obtenidos en el laboratorio se compararon con un extracto comercial.

Tabla 1: Pureza, tamaño de partícula y humedad de la cebada utilizada para la obtención de los extractos

Fracción	β -glucano (%)	Almidón (%)	Tamaño partícula (μm)	Humedad (%)	Observaciones
H13	4,51	50,2	77,62	8,82	Cebada H13 sin tratar
H13 EtOH	5,51	59,3	133,45	8,72	Cebada H13 tratada con etanol
H13 SubT EtOH	5,98	53,2	199,07	7,99	Fracción gruesa tratada con etanol

Se observa como la harina tratada con etanol tiene una pureza en β -glucanos mayor que la harina integral, y a su vez la fracción gruesa tratada con etanol tiene una pureza en β -glucanos más elevada, aunque muy parecida al anterior, por lo que se constata que la fracción gruesa de cebada tendrá mayor pureza en β -glucanos debido a que los β -glucanos se encuentran en las primeras capas del grano de cebada.

La concentración de β -glucanos es mayor en las fracciones tratadas con etanol, debido a que el alcohol ha extraído algunos ingredientes y no así el β -glucano, lo que provoca la concentración de este último. Siendo mayor aún en la fracción gruesa porque al quedarse solo con esa fracción se eliminan parte de las β -glucanasas presentes en el grano de cebada.

En cuanto al contenido de almidón es más elevado en las fracciones tratadas con etanol debido a que el almidón se encuentra más concentrado porque el alcohol elimina grasas y proteínas (las solubles en alcohol) y el almidón al no ser soluble en alcohol queda más concentrado.

El mayor contenido de almidón se observa en la harina integral tratada con etanol, debido a lo descrito anteriormente. Además, se debe al hecho de que en esta fracción gruesa tiene en origen menos contenido en almidón y al hecho de quedarnos con esa fracción se elimina parte del almidón presente en el grano de cebada.

En la tabla 2 se recogen las características de pureza y peso molecular de los extractos obtenidos a través de las materias primas vistas anteriormente y su comparación con el extracto comercial.

Tabla 2: Pureza y peso molecular medio de los extractos obtenidos

Extracto final	β -glucano (%)	Almidón (%)	MW avg (Da)	Humedad (%)
Extracto 1	18,8	22,0	27764	9
Extracto 2	21,5	30,5	248980	6,99
Extracto 3	27,4	19,9	280983	7,40
Cargill	67,6	5,7	140474	7,99

Como ya se intuía por los resultados obtenidos del análisis de las materias primas se ve como el extracto 3 (fracción gruesa tratada) contiene mayor concentración de β -glucanos y menor concentración de almidón, que los anteriores extractos. Todo ello debido a que al disolver en agua destilada para realizar la extracción sólo los elementos solubles se quedan en la parte líquida de la que posteriormente se realiza el secado para obtener dicho extracto final.

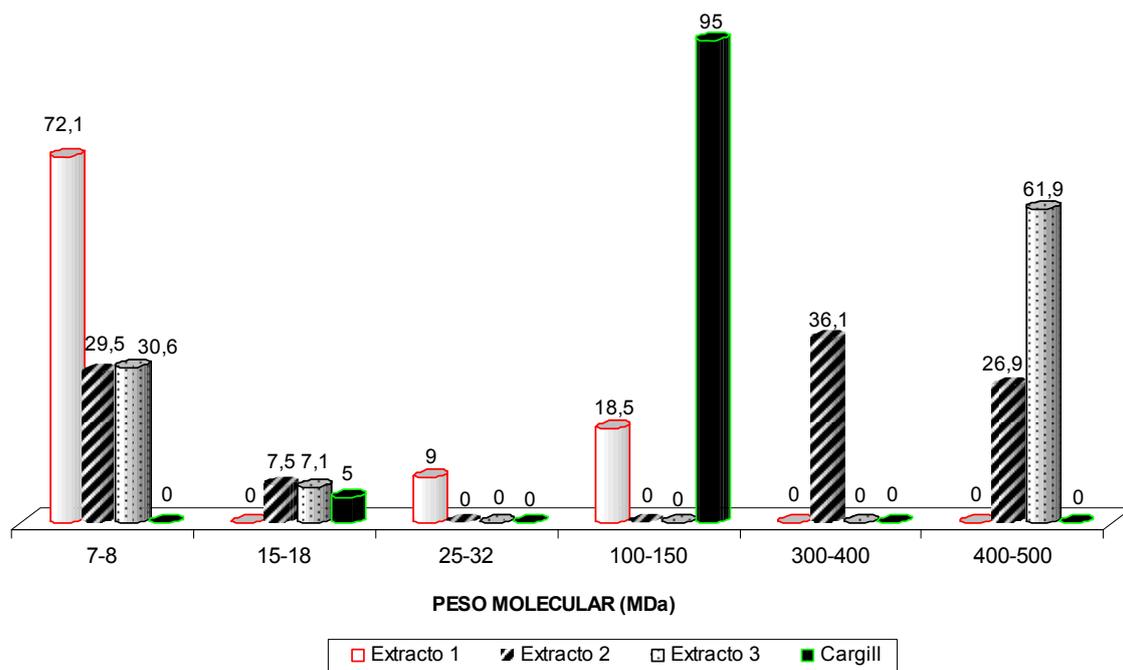


Figura 4: Distribución de pesos moleculares de los β -glucanos en los extractos obtenidos

Tabla 3: Peso molecular extractos.

Extracto	tiempo (min)	% área	MW (Da)	MW avg (Da)
Extracto 3	12,47	61,9	447843	280983
	20,09	7,1	17053	
	21,88	30,6	7909	
Extracto 2	12,29	26,9	483987	248980
	13,26	36,1	318887	
	20,08	7,5	17089	
	21,95	29,5	7682	
Extracto 1	15,75	18,5	109698	27764
	19,10	9,0	26047	
	22,10	72,1	7187	
Cargill	15,07	95,0	147066	140474
	20,35	5,0	15232	

Se observa en la tabla 3 como el extracto 3 (fracción gruesa) no varió mucho el peso molecular medio respecto al extracto 2 (integral). Sin embargo se observa en la figura 1 como la distribución de tamaños si que es mayor el porcentaje de la fracción de mayor peso molecular en el extracto 3 que en el extracto 2.

5.2. – ESTUDIO DEL COMPORTAMIENTO REOLÓGICO DE LAS DISOLUCIONES ACUOSAS DE LOS EXTRACTOS.

5.2.1. – Comportamiento reológico de las disoluciones de los extractos ante ensayos de flujo

Las curvas de evolución del esfuerzo cortante frente al gradiente de velocidad obtenidas en los ensayos de flujo demostraron un comportamiento pseudoplástico para todos los extractos en todas sus concentraciones, excepto en el caso del extracto 1 en el que todas las concentraciones demostraron un comportamiento newtoniano, como se puede observar en la figura 5 en la que se muestran, como ejemplo de lo que igualmente sucede al resto de concentraciones, las curvas del ensayo de flujo de los extractos al 9%.

Ninguno de ellos presento dependencia por el tiempo, como se puede observar en las figuras A.1, A.2, A.3 y A.4, disponibles en el anexo I.

A continuación se muestran las tablas con las propiedades reológicas de las disoluciones acuosas de cada extracto. Los índices y módulos presentados corresponden al ajuste de las medidas al modelo de la ley de la potencia, como ya se indicó anteriormente.

Tabla 4. Resultados de los ensayos de flujo de las disoluciones acuosas de los extractos al 3, 5, 7 y 9%

Concentración	K (Pa·s ⁿ)	Índice de flujo n	R ²
Extractos al 3%			
3	12,738	0,4312	0,9833
2	5,4854	0,5153	0,99
1	0,0005	1,4188	0,9949
Cargill	0,6565	0,8809	0,9888
Extractos al 5%			
3	26,062	0,4949	0,9902
2	8,7535	0,5434	0,9905
1	0,0077	1,0378	0,9972
Cargill	14,45	0,5927	0,9942
Extractos al 7%			
3	29,532	0,5034	0,9953
2	19,752	0,556	0,9848
1	0,0185	0,9947	0,9998
Cargill	20,573	0,6161	0,9945
Extractos al 9%			
3	33,192	0,5431	0,9949
2	44,306	0,4469	0,9815
1	0,0395	0,9801	0,9998
Cargill	23,758	0,2957	0,9875

Los datos del índice de flujo “n” de la tabla 4, demostraron también lo dicho anteriormente de que todos los extractos, excepto el 1, tienen un comportamiento pseudoplástico ya que $n < 1$. En el caso del extracto 1 muestra un comportamiento newtoniano, $n = 1$, para las concentraciones al 5, 7 y 9%, y un comportamiento dilatante, $n > 1$, para la concentración del 3% debido, seguramente, al mayor contenido en almidón del extracto, ya que es el almidón el que suele mostrar comportamientos dilatantes.

También en la tabla 4 se observó que los valores del índice de consistencia K de los distintos extractos fueron más elevados para el extracto 3 y similares para el extracto 2 y cargill, siendo el peso molecular medio del extracto 3 muy similar al 2 y ambos mayores que el de cargill. Esto será debido probablemente a la mayor pureza de β -glucanos del extracto 3 y de cargill, y a que en ambos la mayor fracción (%) de β -glucano corresponde a pesos moleculares altos (como se observa en la Figura 1). Esto puede indicar que se debe atender a la distribución de tamaños de las distintas fracciones a la hora de predecir la viscosidad que el extracto va a dar a la disolución.

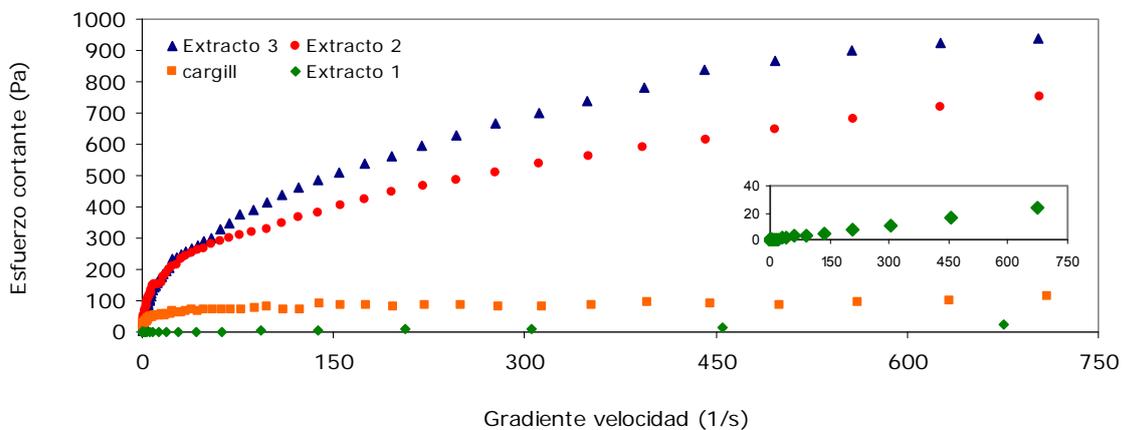


Figura 5. Curvas de evolución del esfuerzo cortante frente al gradiente de velocidad obtenidas en los ensayos de flujo de los extractos al 9%.

5.2.2. – Comportamiento reológico de las disoluciones de los extractos ante ensayos oscilatorios. Barridos de frecuencia.

En las curvas del espectro mecánico de los barridos de frecuencias de las disoluciones acuosas se observa como se produce un cambio en la respuesta reológica de la disolución, en la que al principio G'' es superior a G' lo que indica que la disolución se comporta como un líquido viscoelástico, y a una determinada frecuencia, que depende en cada caso de la concentración, G' pasa a ser superior a G'' lo que indica que la disolución se comporta entonces como un sólido viscoelástico (gel).

Las curvas del espectro mecánico de los barridos de frecuencias, A.7, se pueden ver en el anexo 1.

En la figura 6 se muestran a modo de ejemplo, ya que sucede lo mismo con el resto de extractos, las curvas del barrido de frecuencias del extracto 2 a cada una de las concentraciones. Se observa en esta figura como el cambio en la respuesta reológica, para cada disolución acuosa de los extractos, se produce a frecuencias más bajas según va aumentando la concentración del extracto en la disolución. Por lo que el cambio depende de la concentración del extracto en la disolución.

La tabla 5 resume los coeficientes G'_ω , G''_ω y $\tan \delta$ y los exponentes "a", "b" y "c" obtenidos mediante el ajuste a la ley de la potencia de las curvas de variación de los módulos G' y G'' respecto a la frecuencia. Los valores mostrados en la tabla son para una frecuencia constante de 1 Hz, indicando que se comporta como líquido viscoelástico cuando $\tan \delta > 1$ ($G' > G''$) y como sólido viscoelástico cuando $\tan \delta < 1$ ($G' < G''$). Los altos valores de R^2 demuestra el buen ajuste de los sistemas estudiados para el modelo de ley de potencia.

Se observó también en la tabla como ambos módulos son mayores cuanto mayor peso molecular presenta el extracto, y más aún cargill debido a su superior pureza.

En la figura 7 se observó como a una misma concentración el cambio en la respuesta reológica se produce a distintas frecuencias dependiendo del extracto y del peso molecular de este.

Tabla 5. Resultados de los ensayos oscilatorios de barrido de frecuencia de las disoluciones acuosas de los extractos al 3, 5, 7 y 9%

Concentración	G'_{ω}	a	R^2	G''_{ω}	b	R^2	$\tan \delta$	c
Extractos al 3%								
3	8,2426	1,0013	0,9708	16,202	0,4942	0,8468	1,9656	-0,50701
2	4,4138	1,1184	0,9734	10,237	0,527	0,8182	2,3193	-0,5914
1	0,0938	2,4168	0,9632	0,1387	1,7278	0,9291	1,4787	-0,689
Cargill	156,79	0,078	0,8412	22,96	0,3097	0,9744	0,1464	0,2317
Extractos al 5%								
3	91,677	0,6607	0,9664	101,27	0,3317	0,9145	1,1046	-0,329
2	22,862	0,8236	0,9717	34,406	0,4432	0,9206	1,5049	-0,3804
1	0,0338	1,9822	0,9179	0,0755	1,4047	0,7194	2,2337	-0,5775
Cargill	31,18	0,6389	0,9985	41,465	0,5435	0,9929	1,3299	-0,0954
Extractos al 7%								
3	320,43	0,2565	0,9816	149,81	0,2572	0,9877	0,4675	0,0007
2	163,74	0,5797	0,9589	150,5	0,2713	0,9049	0,9191	-0,3084
1	0,0338	1,7709	0,9022	0,1283	1,1734	0,7184	3,7959	-0,5975
Cargill	130,86	0,5663	0,9983	146,75	0,4723	0,9973	1,1214	-0,094
Extractos al 9%								
3	621,08	0,3956	0,9653	400,07	0,1446	0,8828	0,6442	-0,251
2	363,21	0,5028	0,954	274,21	0,2326	0,9129	0,7550	-0,2702
1	0,0503	1,9618	0,9907	0,2431	1,0911	0,9023	4,8330	-0,8707
Cargill	8508,5	0,0352	0,9743	699,64	0,1487	0,7432	0,0822	0,1135

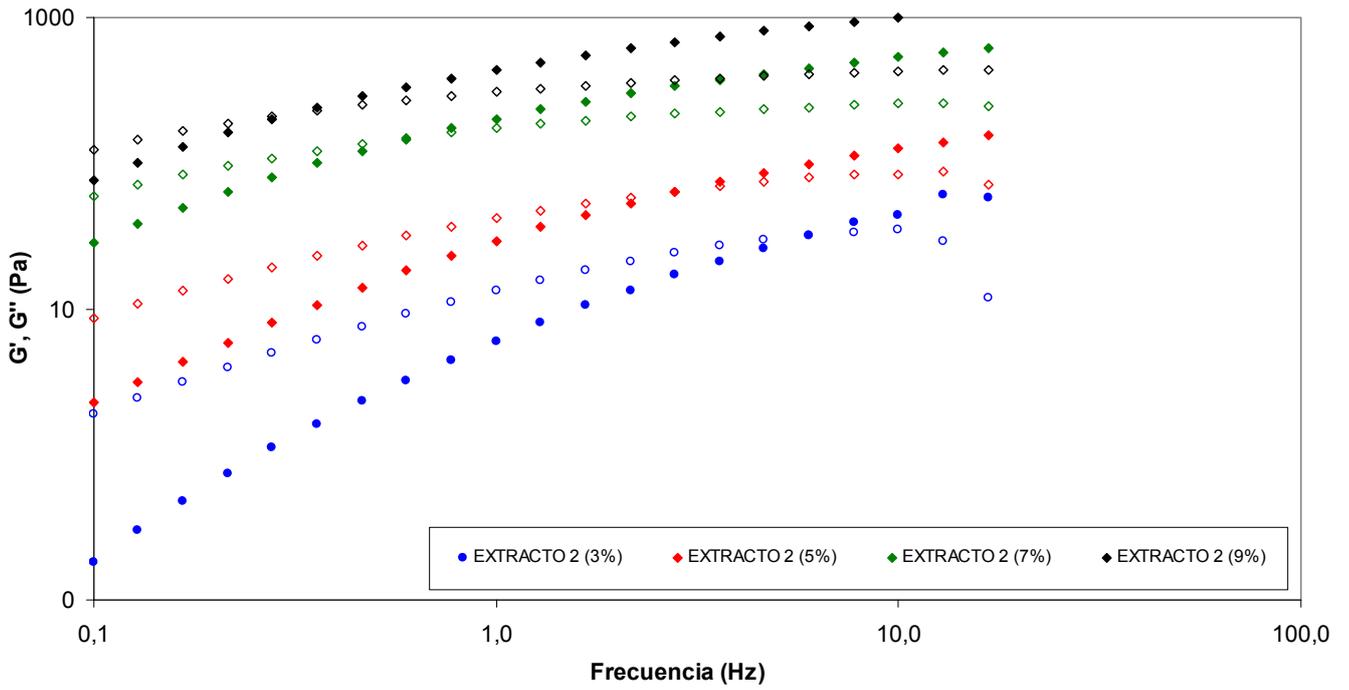


Figura 6. Espectro mecánico de las disoluciones acuosas del extracto 2 a concentraciones del 3, 5, 7 y 9 %. Los puntos rellenos corresponden al modulo de almacenamiento G' , y los puntos huecos al modulo de perdida G'' .

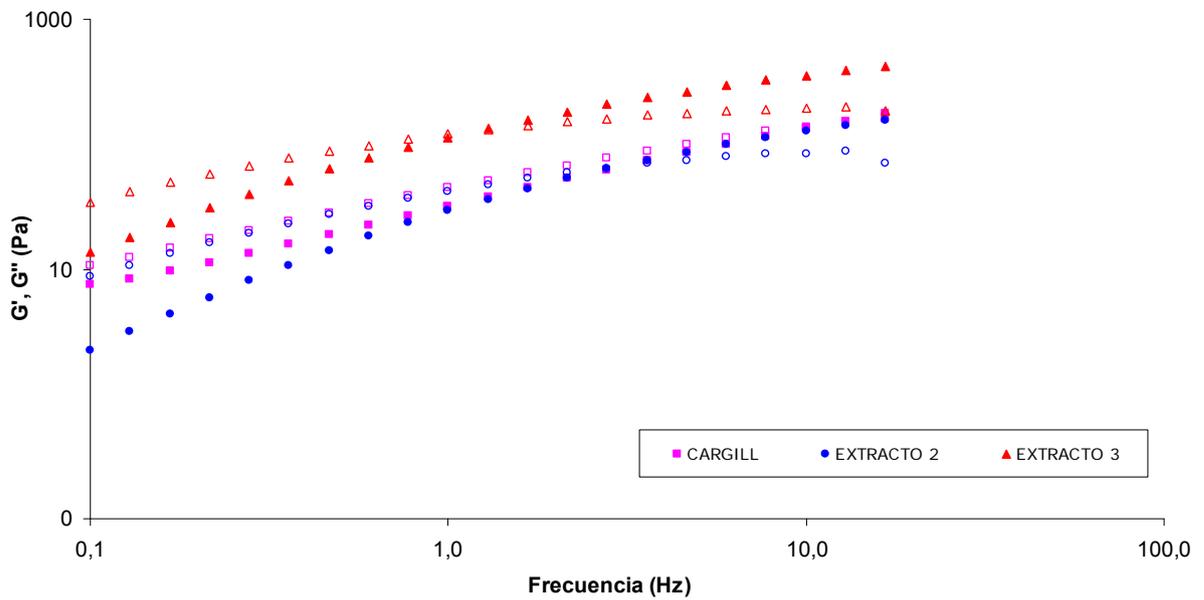


Figura 7. Espectro mecánico de las disoluciones acuosas de los extractos a una concentración del 5%. Los puntos rellenos corresponden al modulo de almacenamiento G' , y los puntos huecos al modulo de perdida G'' .

5.3. – ESTUDIO DEL COMPORTAMIENTO REOLÓGICO DE LAS MASAS DE PAN ELABORADAS CON LOS EXTRACTOS.

5.3.1. – Comportamiento reológico de las masas ante ensayos de flujo

Las curvas de evolución del esfuerzo cortante frente al gradiente de velocidad obtenidas en los ensayos de flujo demostraron un comportamiento pseudoplástico, como se observo en la gráfica A.5 del anexo 1.

Los datos del índice de flujo “n” de la tabla 6, demostraron que todas las masas tienen un comportamiento pseudoplástico ya que se cumple que $n < 1$.

El extracto 1 se deshecho a la hora de elaborar las masas de pan debido a que no tiene sentido añadir un extracto de peso molecular tan bajo en el que la viscosidad aportada será muy baja.

Tabla 6. Resultados ensayo de flujo de masas

Concentración	R ²	K (Pa·s ⁿ)	Índice de flujo n
Control	0,9432	87,676	0,2604
1,5 % HPMC	0,9762	965,24	0,4729
3% Cargill	0,964	1038,5	0,1321
3% Extracto 2	0,9509	217,75	0,266
3% Extracto 3	0,9519	317,08	0,4267

Se observó que los valores del índice de consistencia *K* de las masas elaboradas con los extractos son mayores que el índice de la masa control y que van aumentando según aumenta la pureza en β-glucanos de cada extracto. Aunque se observa también como con el uso de 1,5% de HPMC el índice de consistencia sigue siendo mayor que el conseguido con los extractos.

Además de la concentración de polisacárido, el peso molecular (Mw) parece afectar también el rendimiento de fabricación de pan.

En la figura 8 se observó el comportamiento pseudoplástico de todas las masas de pan elaboradas con los distintos extractos.

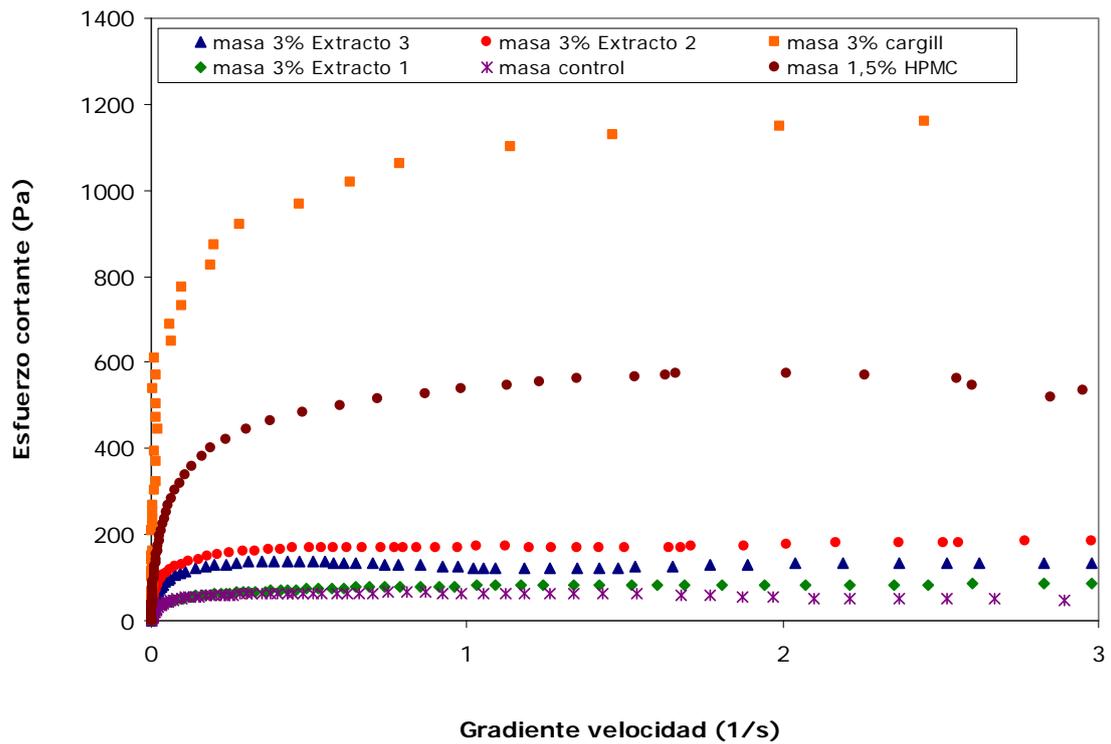


Figura 8. Curvas de evolución del esfuerzo cortante frente al gradiente de velocidad obtenidas en los ensayos de flujo de las masas de pan.

5.3.. – Comportamiento reológico de las masas ante ensayos oscilatorios de frecuencia.

La figura 9 muestra el espectro mecánico de las masas de pan sin gluten elaboradas con un 3% de los extractos. Los panes sin gluten son habitualmente elaborados con HPMC, este hidrocólide imita la acción del gluten confiriendo estructura a la masa y otorgando una consistencia capaz de retener el gas formado durante la fermentación y su expansión durante el horneado permitiendo alcanzar un volumen elevado del pan.

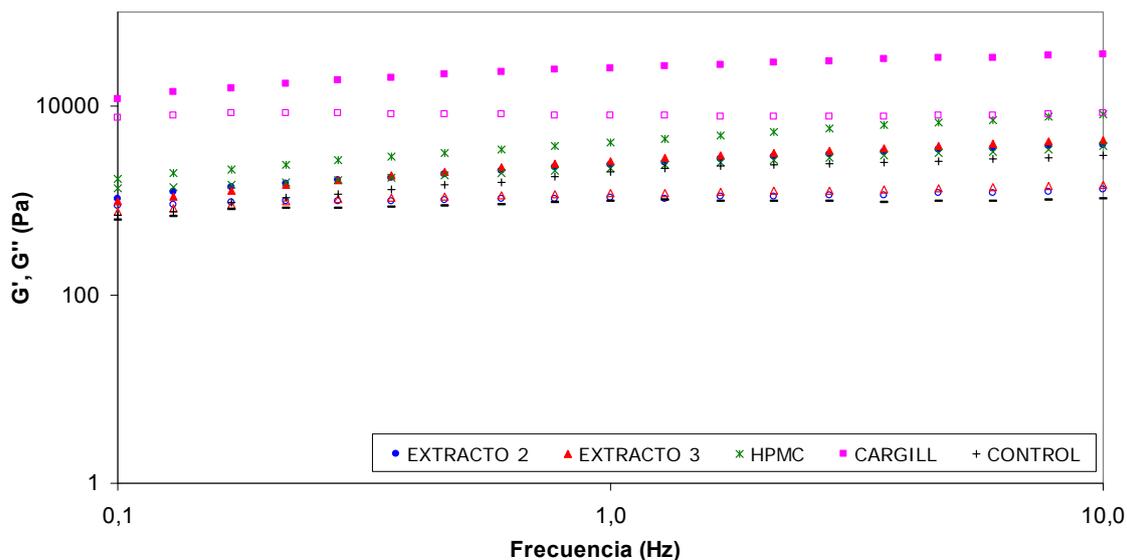


Figura 9. Espectro mecánico de masas de pan sin gluten enriquecidas con extractos. Los puntos rellenos corresponden al módulo de almacenamiento G' , y los puntos huecos al módulo de pérdida G'' .

Tabla 7. Resultados ensayo oscilatorio de frecuencia de masas

Concentración	G'	a	R^2	G''	b	R^2	$\tan \delta$	c
3 % Extracto 3	2303,3	0,2237	0,8818	1141,9	0,0958	0,7205	0,4958	-0,1279
3 % Extracto 2	2231,2	0,2484	0,9754	1064,8	0,0436	0,1452	0,4772	-0,2048
3 % Cargill	23208	0,1705	0,9392	8272,5	0,0701	0,5842	0,3565	-0,1004
1,5 % HPMC	3943,9	0,2998	0,9893	2225,7	0,2226	0,9821	0,5643	-0,0772
Control	1677,7	0,2685	0,9482	885,94	0,0354	0,0252	0,5281	-0,2331

Como puede verse en la tabla 7 y en la figura 9, con la adición del 3% de los extractos de β -glucanos se consiguió aumentar los módulos viscoelásticos respecto a la masa control. Aunque la consistencia sigue siendo mayor con la adición de 1,5% de HPMC y con el 3% de cargill. Se trata de un sistema con un comportamiento de sólido viscoelástico (gel), ya que $\tan \delta < 1$ ($G'' < G'$).

Aunque sería necesario hacer pruebas adicionando mayor cantidad de extracto enriquecido en β -glucanos, las pruebas realizadas parecen indicar que la consistencia que aportan a la masa sin gluten parece no ser suficiente para sustituir al HPMC.

Con el extracto de cargill si que parece que se obtienen la consistencia que le pudiese aportar HPMC.

6.- CONCLUSIONES

Los extractos obtenidos a partir de cebada son capaces de aportar una elevada viscosidad a sus disoluciones acuosas que dependerá del peso molecular de los beta-glucanos y de su concentración. Se confirma su buena adecuación como hidrocoloide para la formulación de alimentos, lo que le confiere un interés tecnológico además del nutritivo y de beneficio para la salud ya reconocido, entre otros, por la EFSA.

En la formulación de pan, aunque quedan pendientes ensayos adicionales con cantidades mayores de estos concentrados, todo parece indicar que la consistencia que aportan a la masa sin gluten puede no ser suficiente para sustituir a los miméticos habitualmente seleccionados para la formulación de panes sin gluten, solamente el β -glucano comercial parece aportar dicha consistencia a las masas de pan de sin gluten. A la vista de los resultados, es posible que se pueda requerir de un complemento de HPMC, probablemente menor del habitual, para conseguir panes enriquecidos en β -glucano y de buena calidad sensorial.

7. AGRADECIMIENTOS

A Felicidad Ronda, Oscar Benito y Esther Alonso por la ayuda prestada para la elaboración de esta memoria.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Mette S. Mikkelsen, Birthe M. Jespersen, Birger L. Møller, Helle N. Lærke, Flemming H. Larsen, Søren B. Engelsen. (2010). Comparative spectroscopic and rheological studies on crude and purified soluble barley and oat β -glucan preparations. *Food Research International* 43, 2417–2424.
- A. Skendi, M. Papageorgiou, C.G. Biliaderis (2009). Effect of barley β -glucan molecular size and level on wheat dough rheological properties. *Journal of Food Engineering* 91, 594–601.
- A. Skendi, C.G. Biliaderis, M. Papageorgiou, M.S. Izydorczyk (2010). Effects of two barley β -glucan isolates on wheat flour dough and bread properties. *Food Chemistry* 119, 1159–1167.
- Adriana Skendi a, Maria Papageorgiou b, Costas G. Biliaderis (2010). Influence of water and barley β -glucan addition on wheat dough viscoelasticity. *Food Research International* 43, 57–65.
- A. Lazaridou, C.G. Biliaderis (2007). Molecular aspects of cereal β -glucan functionality: Physical properties, technological applications and physiological effects. *Journal of Cereal Science* 46 (2), 101–118.
- A. Lazaridou, C.G. Biliaderis, M.S. Izydorczyk (2003). Molecular size effects on rheological properties of oat β -glucans in solution and gels. *Food Hydrocolloids* 17, 693–712.
- A. Lazaridou, C.G. Biliaderis, M. Micha-Screttas, B.R. Steele (2004). A comparative study on structure–function relations of mixed-linkage (1 \rightarrow 3), (1 \rightarrow 4) linear β -D-glucans. *Food Hydrocolloids* 18, 837–855.
- Zvonko Burkus, Feral Temelli (2005). Rheological properties of barley β -glucan. *Carbohydrate Polymers* 59, 459–465.

- Nicolai Böhm, Werner-Michael Kulicke (1999). Rheological studies of barley (1→3), (1→4)-β-glucan in concentrated solution: mechanistic and kinetic investigation of the gel formation. *Carbohydrate Research* 315, 302–311.
- O. Benito-Román, E. Alonso, S. Lucas (2011). Optimization of the β-glucan extraction conditions from different waxy barley cultivars. *Journal of Cereal Science* 53, 271-276.
- Felicidad Ronda, Bonastre Oliete, Manuel Gómez, Pedro A. Caballero, Valentín Pando (2011). Rheological study of layer cake batters made with soybean protein isolate and different starch sources. *Journal of Food Engineering* 102, 272–277.
- Rondanelli, M. Opizzi, A. Monteferrario, F. (2009). The biological activity of β-glucans. *Minerva Medica* 100 (3), 237-245.
- Moriarty, S. Temelli, F. Vasanthan, T. (2010). Effect of health information on consumer acceptability of bread fortified with β-glucan and effect of fortification on bread quality. *Cereal Chemistry* 87 (5), 428-433.
- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies. (2011). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to β-glucans from oats and barley and maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations (ID 1236, 1299), increase in satiety leading to a reduction in energy intake (ID 851, 852), reduction of post-prandial glycaemic responses (ID 821, 824), and “digestive function” (ID 850) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal* 2011;9(6):2207 [21 pp.].
- Limberger, VM. de Francisco, A. Borges, MR. Oro, T. Ogliari, PJ. Scheuer, PM. Noronha, CM. (2011). Extraction of barley β-glucans and partial characterization of residual starch. *CIENCIA RURAL* 41 (12), 2217-2223.
- Autio, K. Myllymaki, O. Suortti, T. Saastamoinen, M. Poutanen, K. (1992). Physical-properties of (1→3), (1→4) β-d-glucan prepartes isolated from finnish oat varieties. *Food Hydrocolloids* 5 (6), 513-522.
- Shelat, KJ. Vilaplana, F. Nicholson, TM. Gidley, MJ. Gilbert, RG. (2011). Diffusion and rheology characteristics of barley mixed linkage β-glucan and possible implications for digestion. *Carbohydrate Polymers* 86, (4) 1732-1738.
- Luhalo M; Martensson AC; Andersson R; et al. Compositional analysis and viscosity measurements of commercial oat brans. *Journal of the science of food and agriculture*. 76 (1) 142-148.

**ANEXO I: Gráficas del
comportamiento reológico de las
disoluciones acuosas y masas.**

Curvas de flujo de los extractos para una concentración del 3%, con tramos ascendente y descendente.

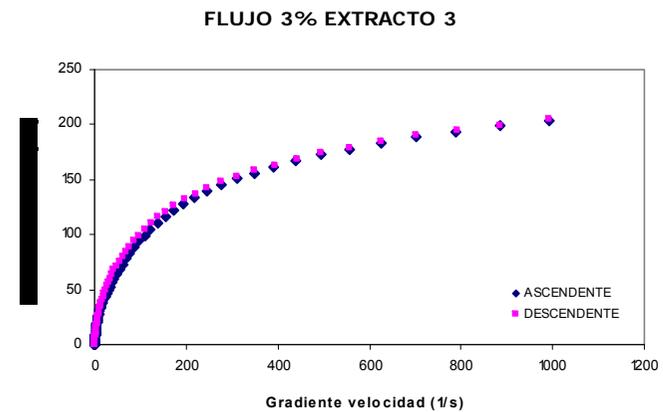
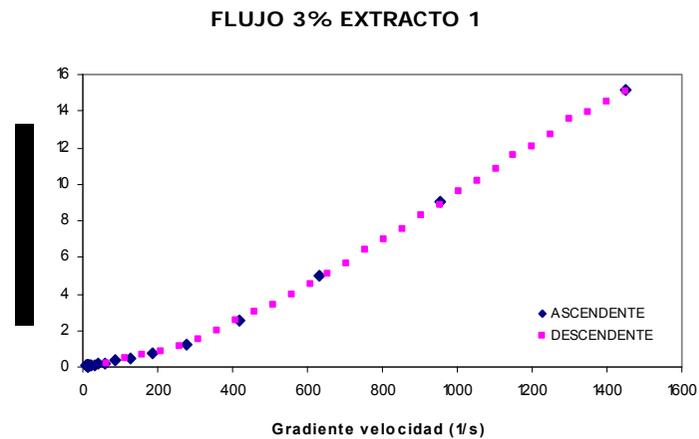
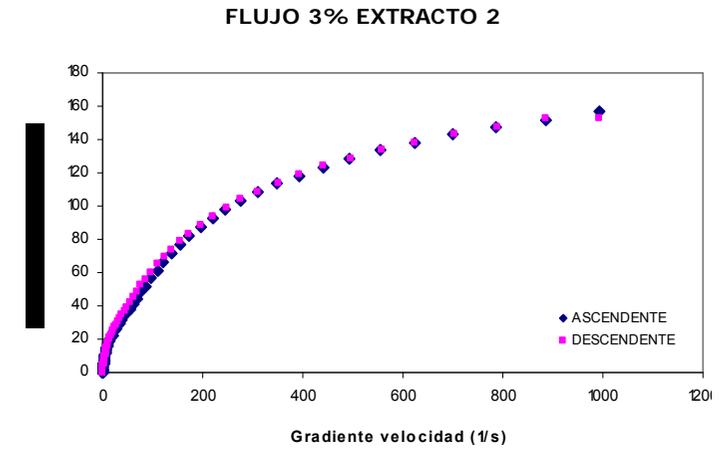
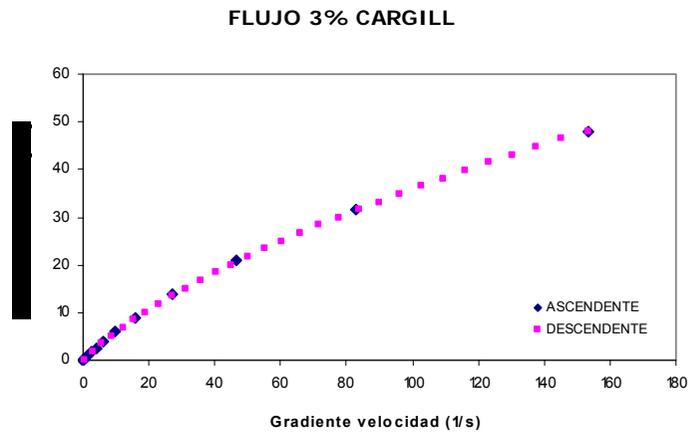


Figura A.1. Curvas de flujo de los extractos a una concentración del 3%, con tramos ascendente y descendente.

Curvas de flujo de los extractos para una concentración del 5%, con tramos ascendente y descendente.

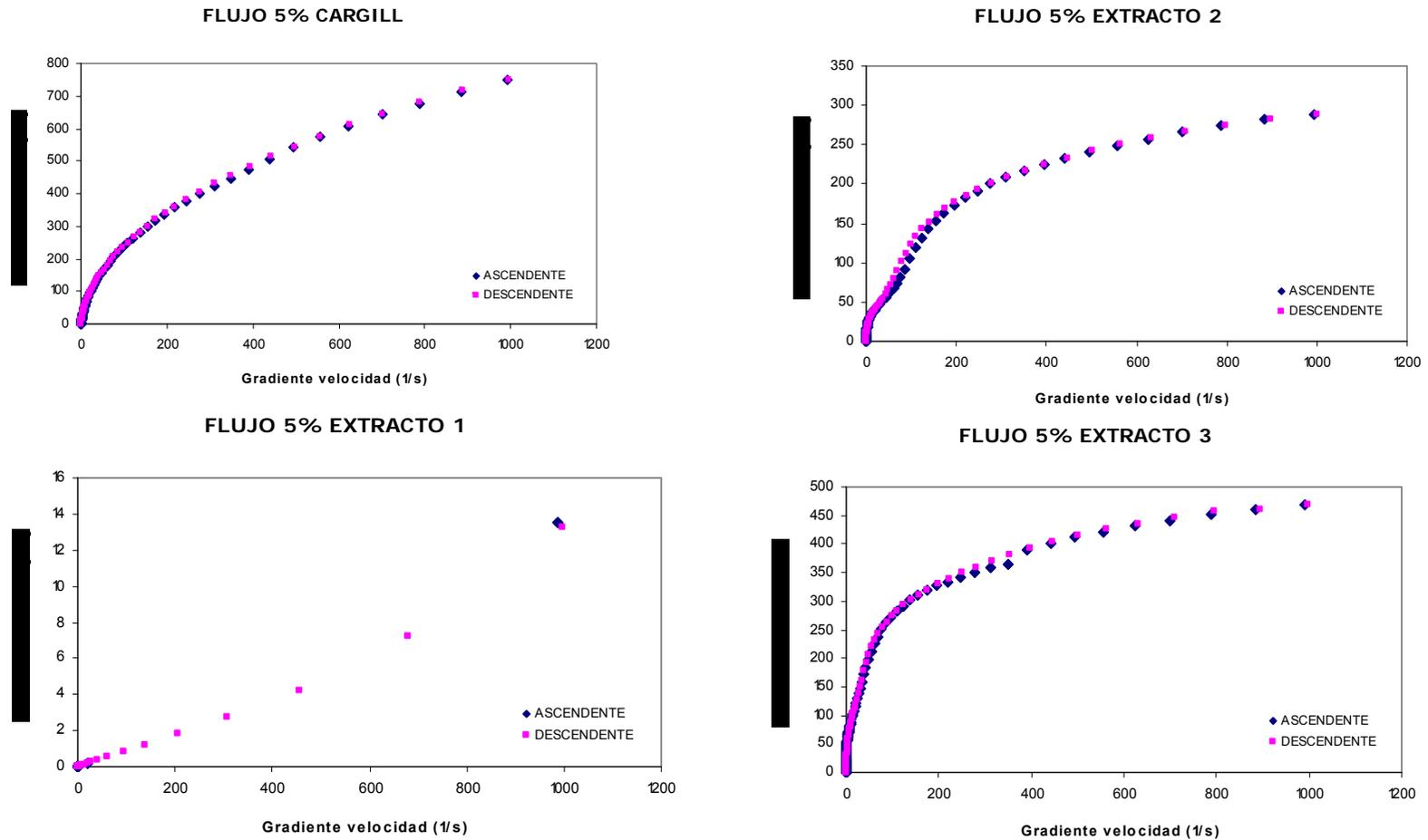


Figura A.2. Curvas de flujo de los extractos a una concentración del 5%, con tramos ascendente y descendente.

Curvas de flujo de los extractos para una concentración del 7%, con tramo descendente.

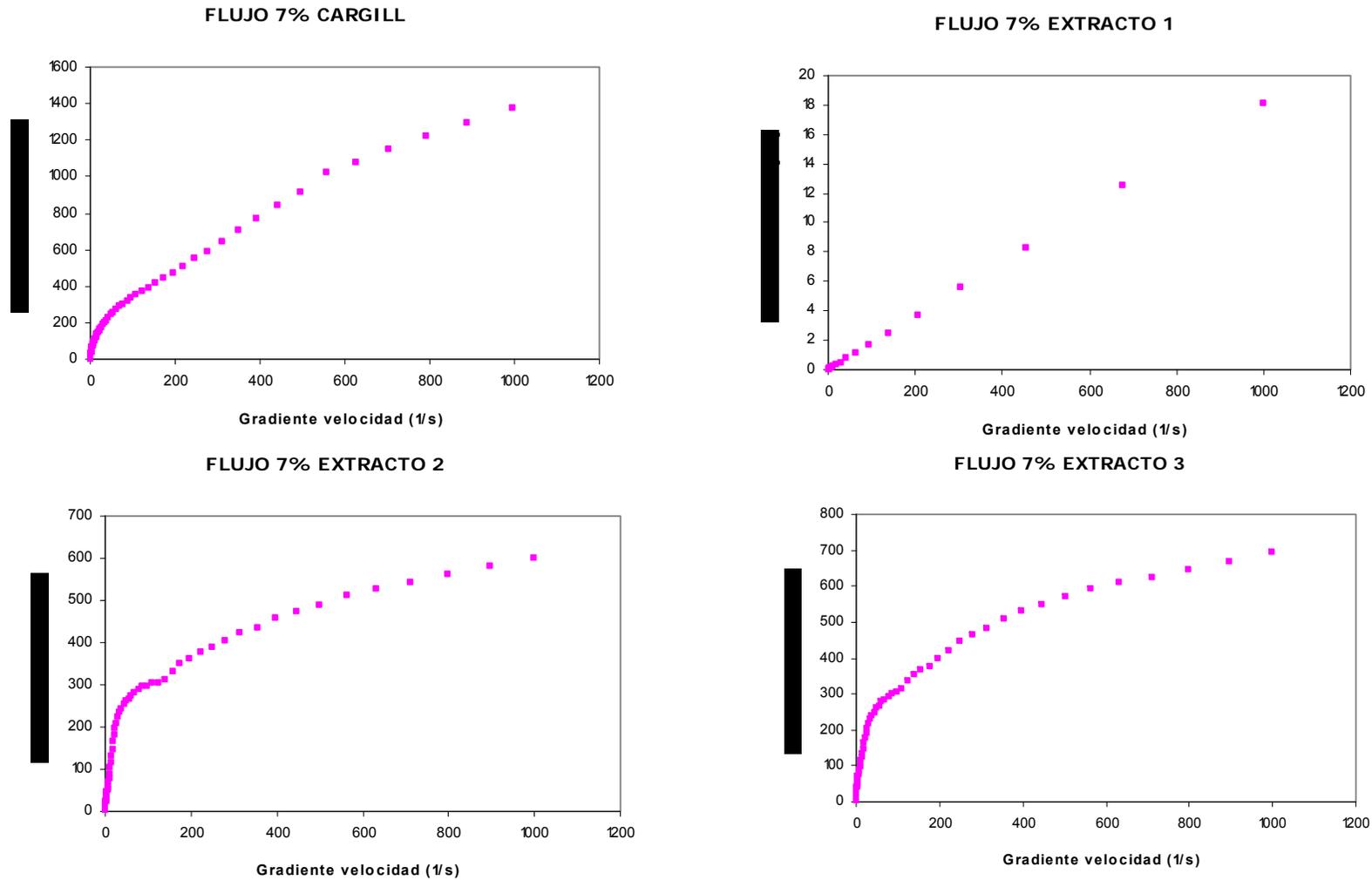
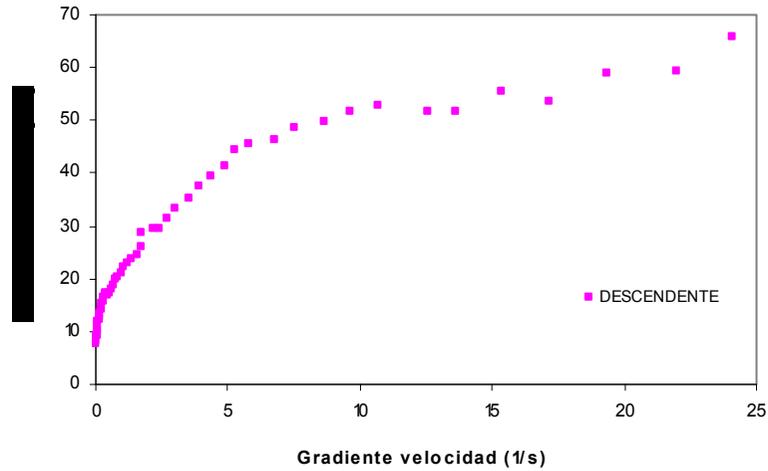


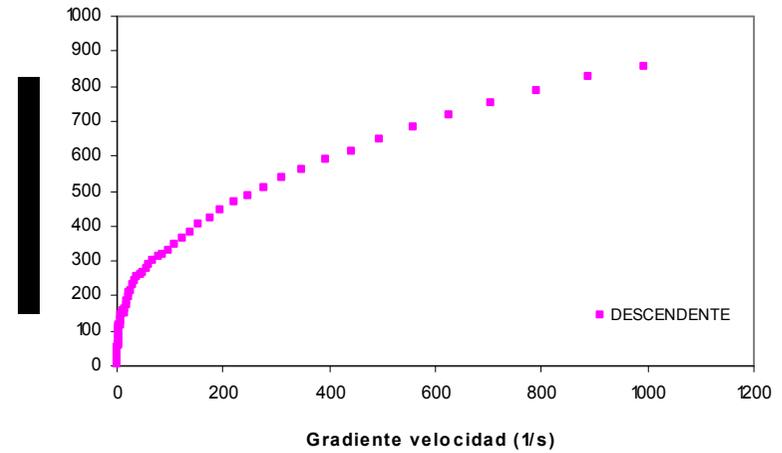
Figura A.3. Curvas de flujo de los extractos a una concentración del 5%, con tramos ascendente y descendente.

Curvas de flujo de los extractos para una concentración del 9%, con tramo descendente.

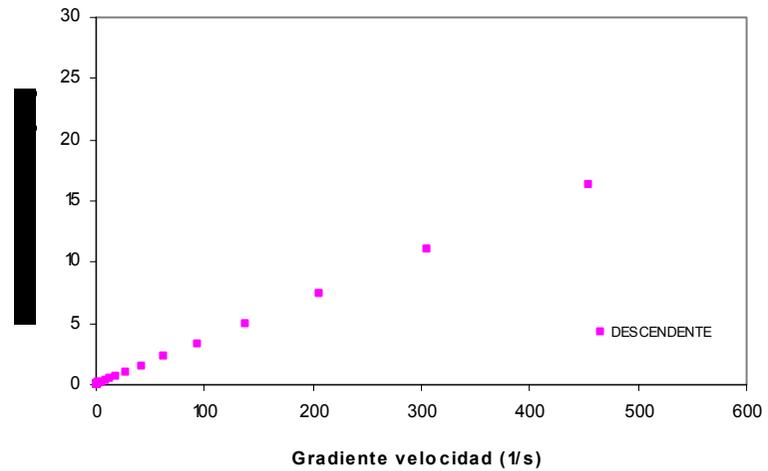
FLUJO 9% CARGILL



FLUJO 9% EXTRACTO 2



FLUJO 9% EXTRACTO 1



FLUJO 9% EXTRACTO 3

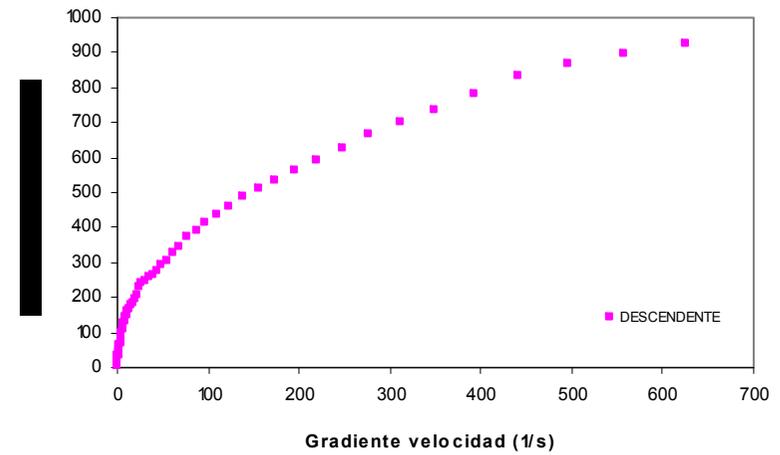


Figura A.4. Curvas de flujo de los extractos a una concentración del 9%, con tramos ascendente y descendente.

Curvas de flujo de las masas de pan sin gluten, con tramo ascendente.

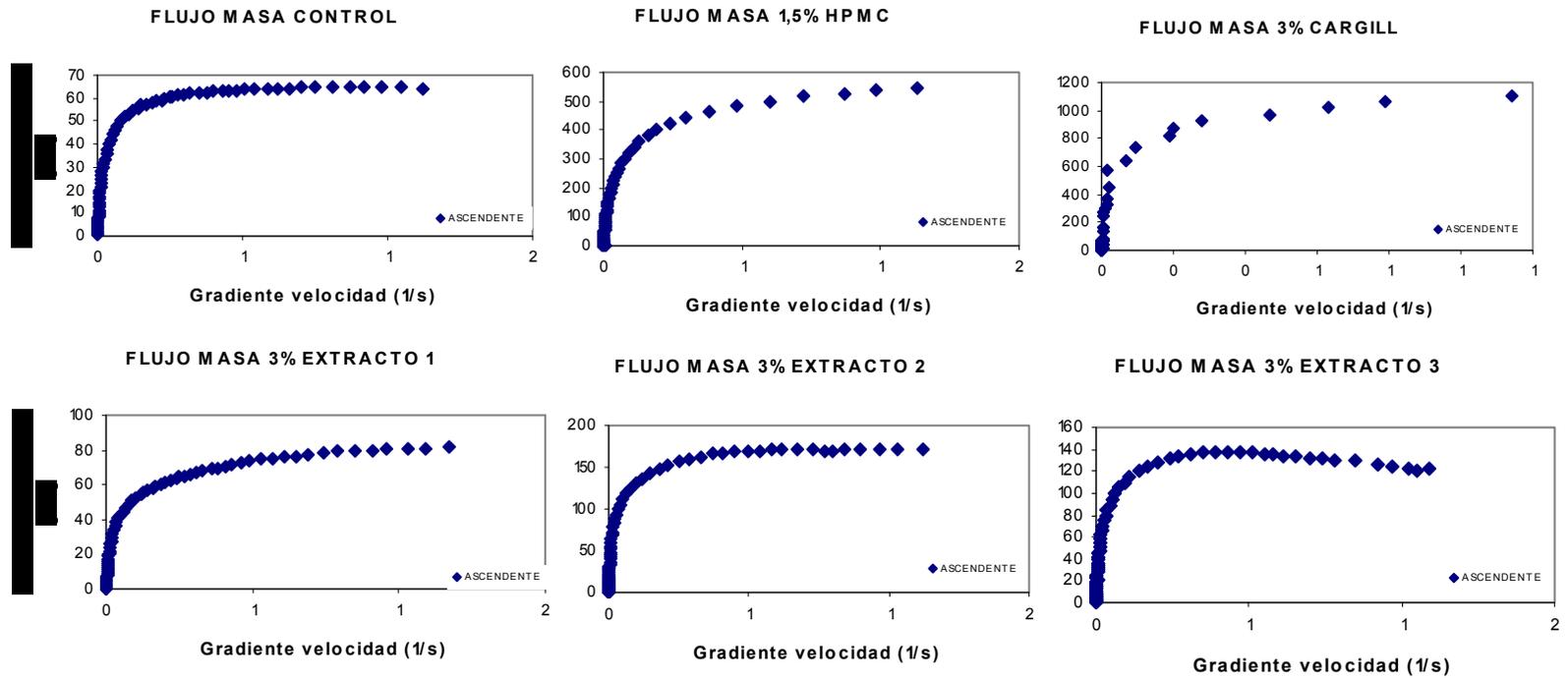


Figura A.5. Curvas de flujo de masas de pan sin gluten, con tramo ascendente.

Curvas de flujo de cada extracto comparando para cada concentración.

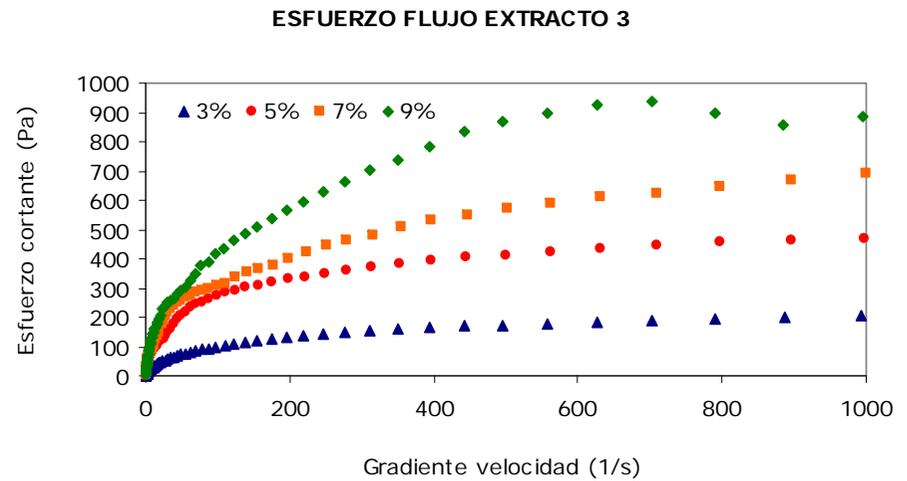
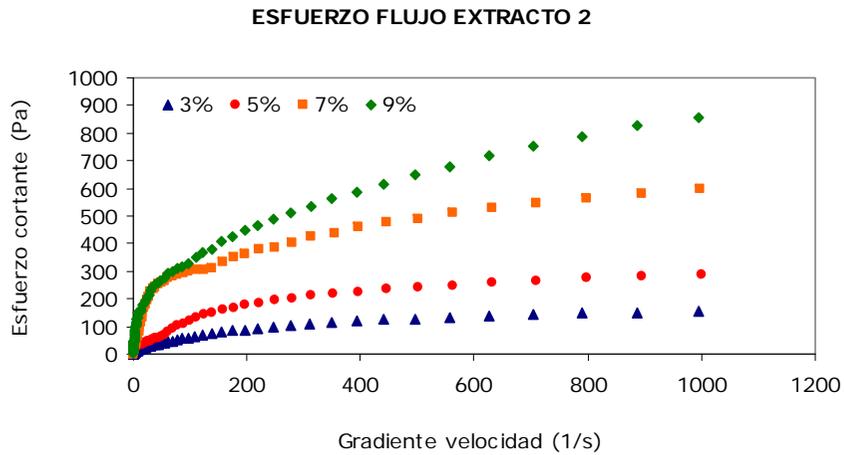
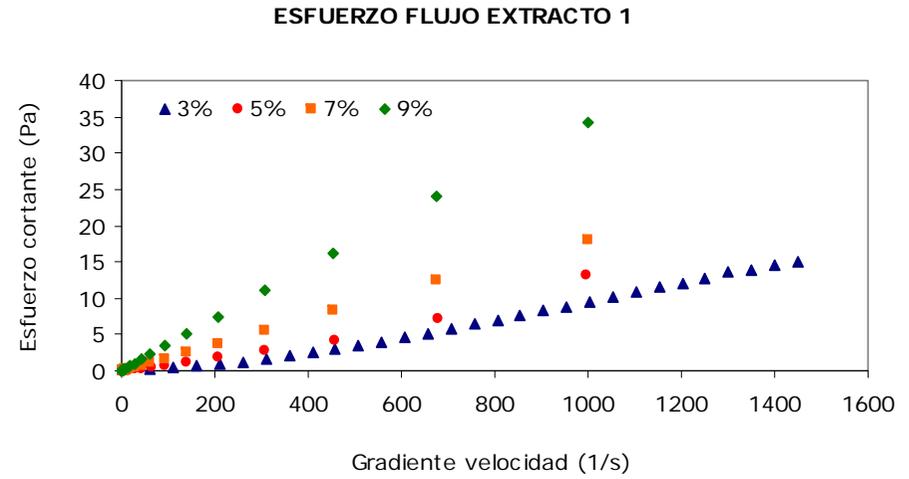
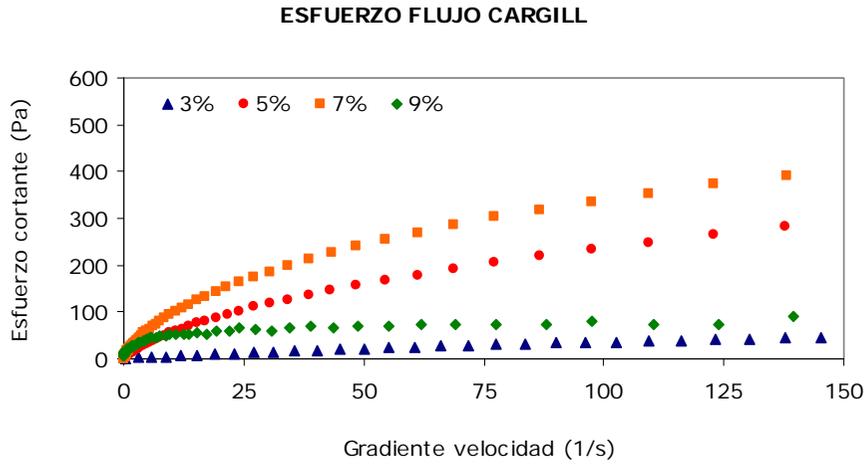


Figura A.6. Curvas de flujo de cada extracto comparando para cada concentración.

Curvas de los ensayos oscilatorios de barridos de esfuerzos de los extractos para cada concentración

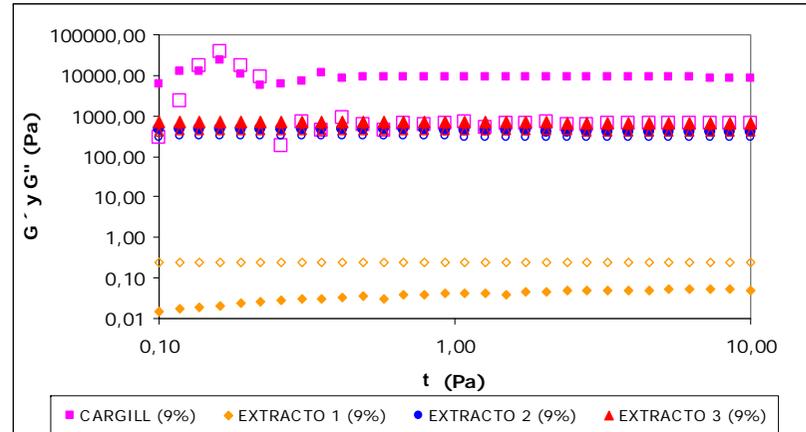
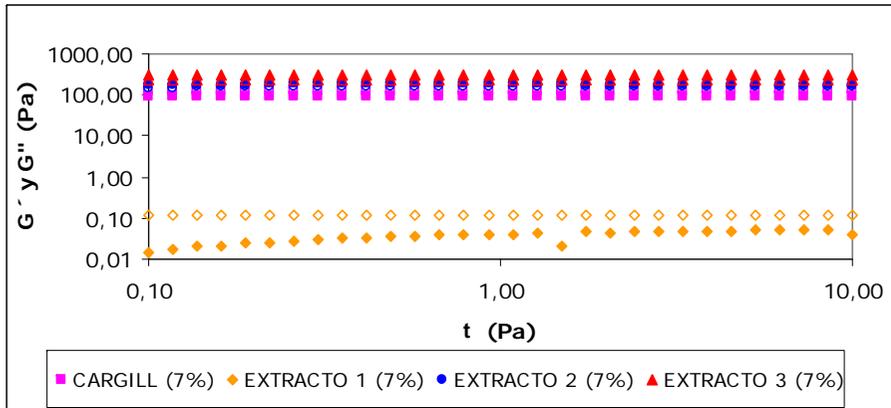
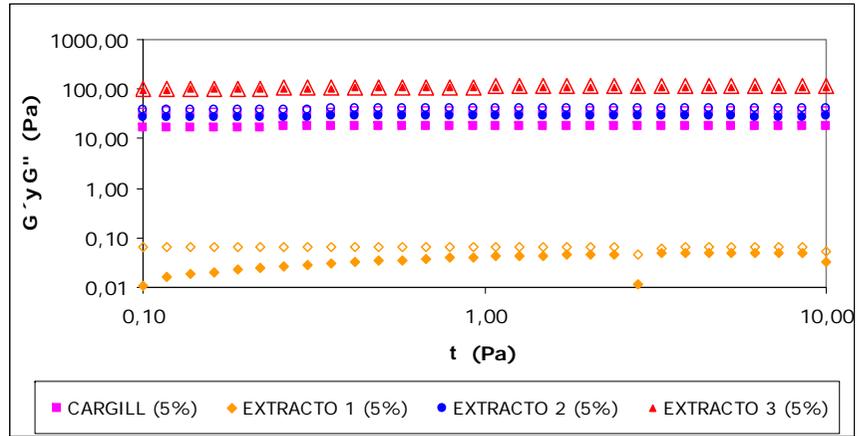
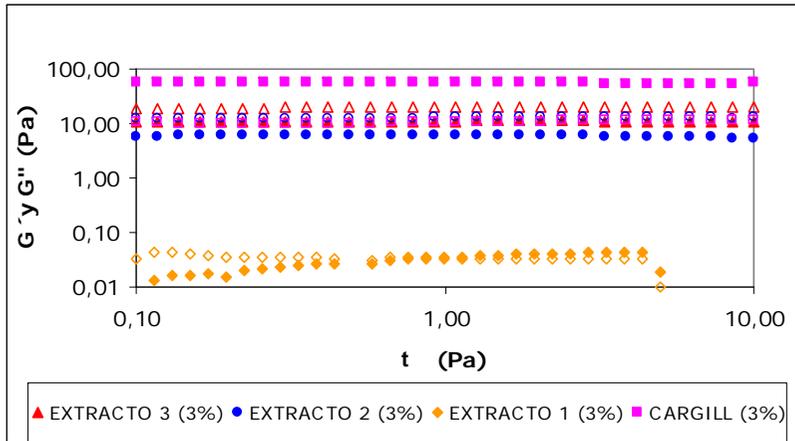


Figura A.7. Curvas de los ensayos oscilatorios de barridos de esfuerzos para cada concentración. Los puntos rellenos corresponden al modulo de almacenamiento G' , y los puntos huecos al modulo de perdida G'' .

Curvas de los ensayos oscilatorios de barridos de esfuerzos de las masas de pan sin gluten enriquecidas con extractos

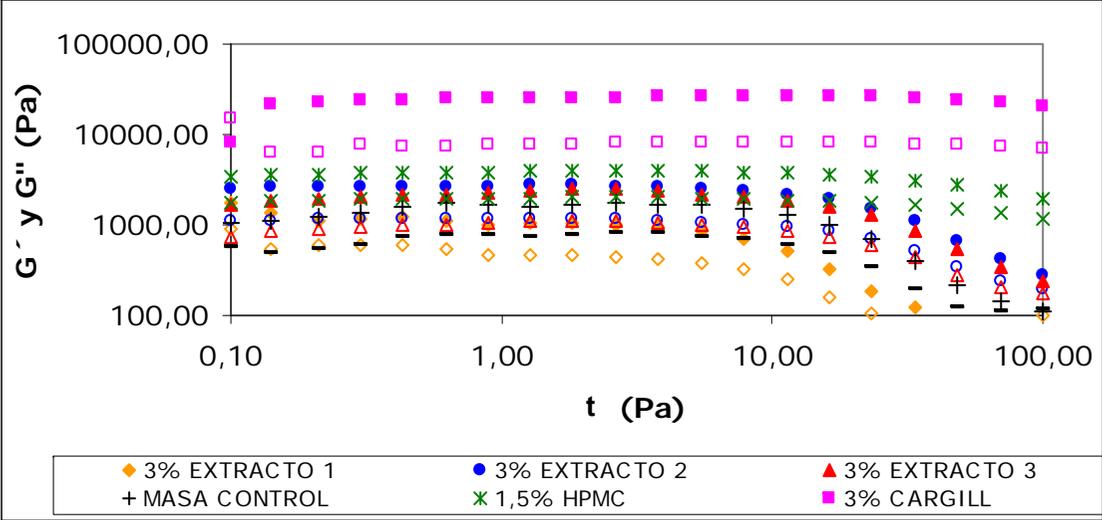
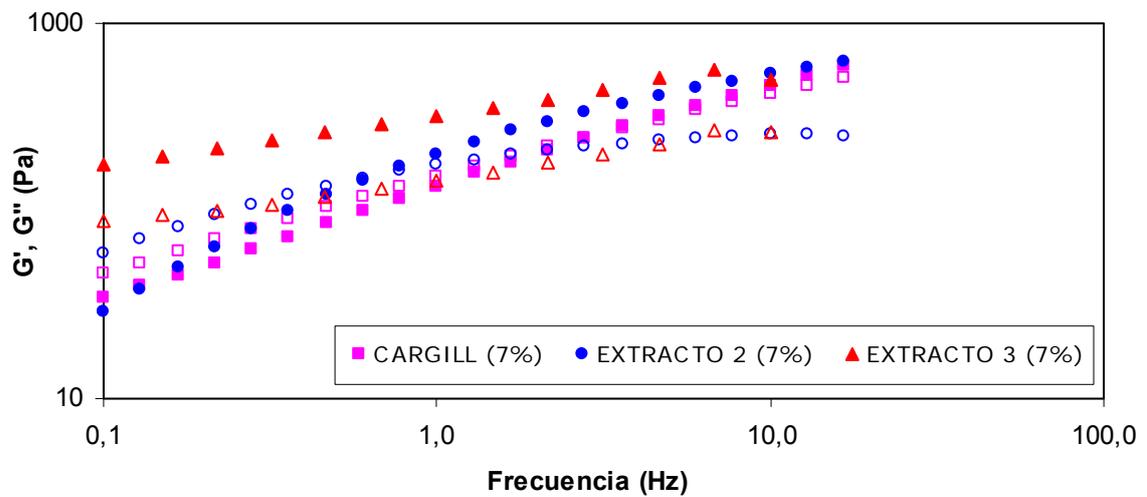
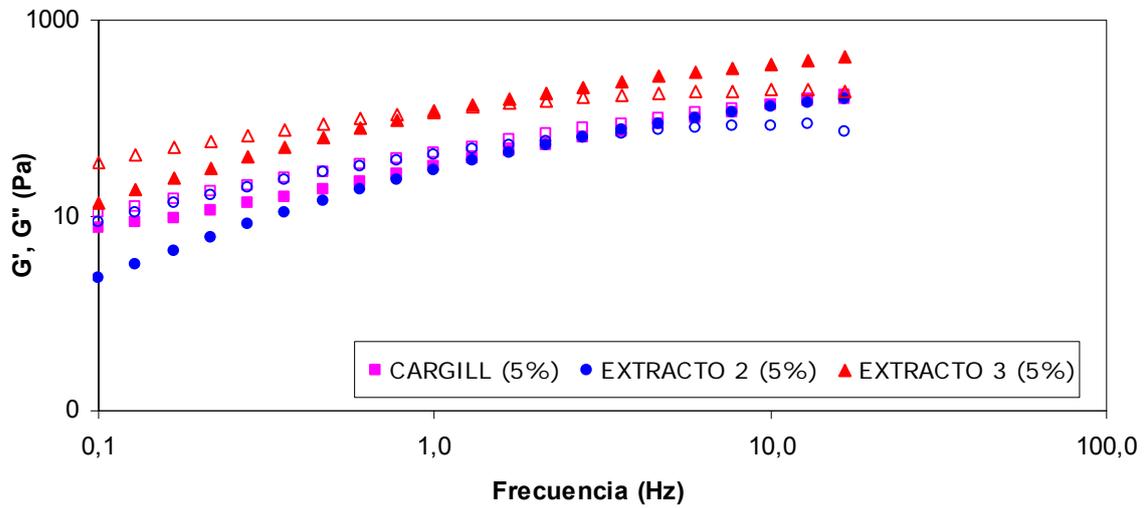
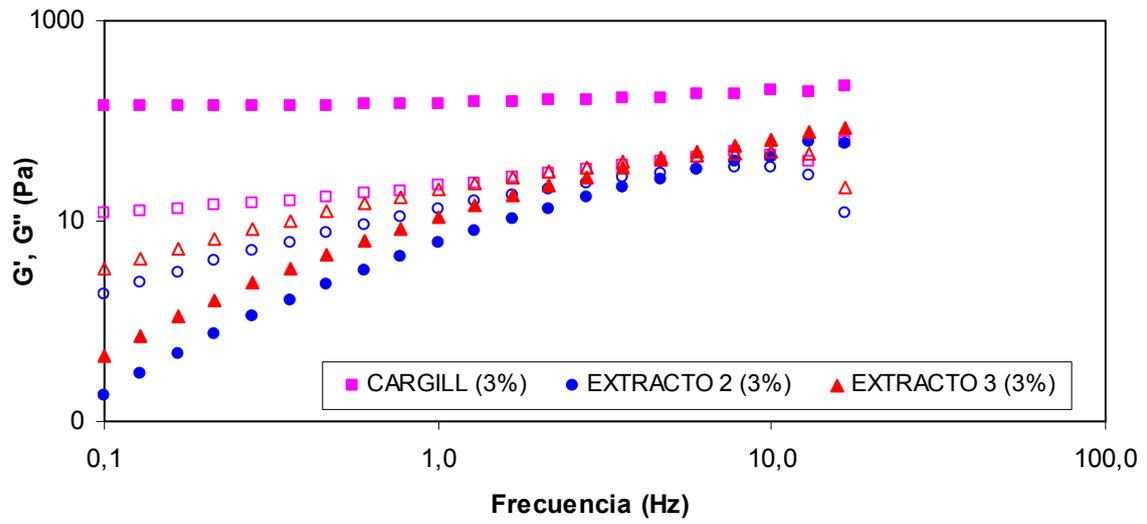


Figura A.8. Curvas de los ensayos oscilatorios de barridos de esfuerzos de las masas de pan sin gluten enriquecidas con extractos. Los puntos rellenos corresponden al modulo de almacenamiento G' , y los puntos huecos al modulo de perdida G'' .

Curvas del espectro mecánico de los barridos de frecuencias de las disoluciones acuosas



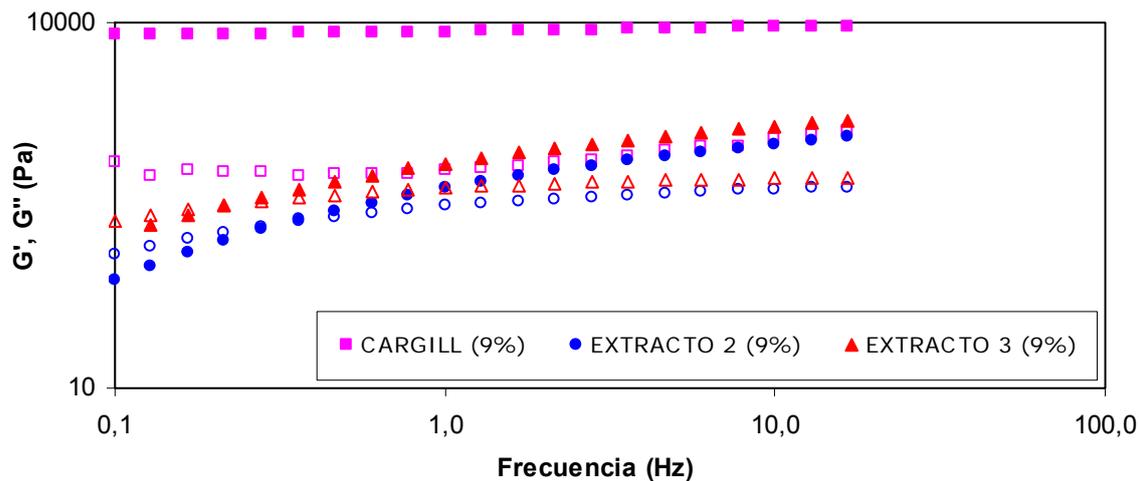


Figura A.9. Espectro mecánico de los barridos de frecuencias de las disoluciones acuosas. Los puntos rellenos corresponden al módulo de almacenamiento G' , y los puntos huecos al módulo de pérdida G'' .

Curvas del espectro mecánico de los barridos de frecuencias de las masas de pan sin gluten enriquecidas con extractos

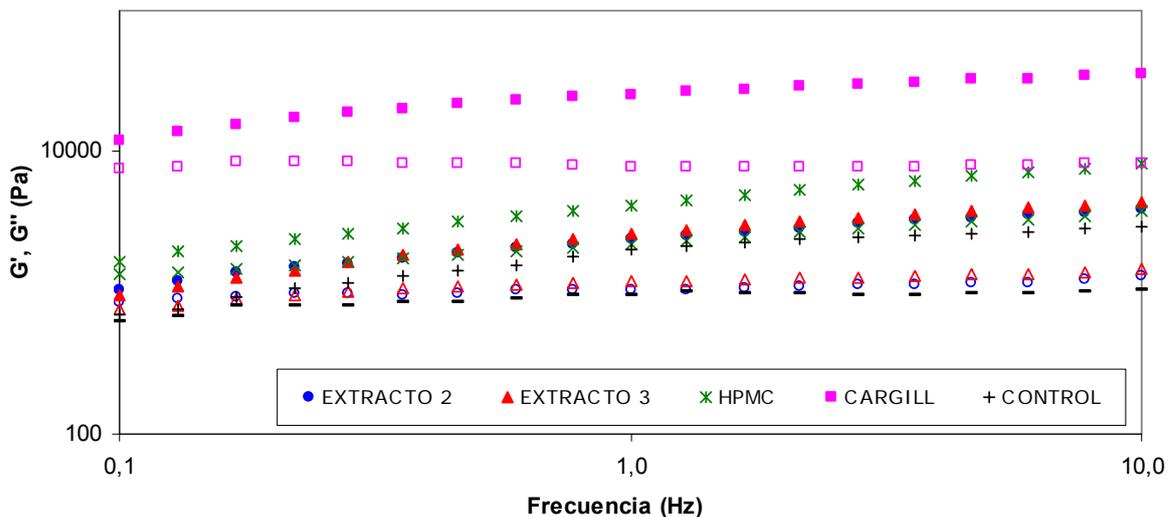


Figura A.10. Espectro mecánico de los barridos de frecuencias de las masas de pan sin gluten enriquecidas con extractos. Los puntos rellenos corresponden al módulo de almacenamiento G' , y los puntos huecos al módulo de pérdida G'' .