

Hacia variedades de cebada cervecera de auténtica calidad

Determinación de la calidad cervecera de la cebada mediante electroforesis SDS-PAGE

Por: Urbano Terrón, P.; Barretto Canuto, V.T. y Vares, L.*

Entre los cereales, la cebada (*Hordeum vulgare* L.) ocupa el cuarto lugar mundial en orden de importancia, con cerca de 76 millones de hectáreas cultivadas anualmente, siendo superada por el trigo, arroz y maíz. En España, tanto en superficie cultivada como en producción, la cebada es el principal cereal cultivado.

En la Unión Europea, España es el país que mayor superficie dedica al cultivo de la cebada (aproximadamente 3.600.000 ha, en estos últimos años) y, sin embargo, nuestra producción de grano de este cereal nos sitúa claramente por debajo de Alemania o Francia. Las Previsiones de Producción de Cereales en la UE-15 (VIDA RURAL, N° 19-29, julio 1995) daban las siguientes cifras para la cebada en esta campaña: Alemania, 11.128 mil toneladas; Francia, 7.845 mil toneladas; Reino Unido, 6.658 mil toneladas; España, 6.200 mil toneladas y Dinamarca, 3.700 mil toneladas.

Como consecuencia de la sequía, las estimaciones de la cosecha pasada a finales del año eran bastante pesimistas situándose en torno a los 5,0 millones de toneladas. Esta cifra frente a los más de 9 millones de toneladas que se obtenían en nuestro país en los años 92-93, nos sugieren que:

a) Necesitamos incrementar las producciones, ya sea por la vía de elevar los rendimientos o por la de aumentar las su-

perficie de cultivo. Para esta segunda vía sería necesario que se consideraran las superficies dedicadas a la producción de cebadas cerveceras como cultivos «no alimentarios (non food)».

b) Una forma de compensar los bajos rendimientos puede ser la obtención de precios más altos a base de ofrecer un producto industrializable de elevada calidad.

Debe tenerse en cuenta que las cebadas de calidad cervecera suelen pagarse entre dos y tres pesetas más caras por kilo que las cebadas caballares y que, hasta el presente, el mercado está asegurado tanto a nivel de consumo interno como en el de la exportación. El consumo interno de esta cebada cervecera se sitúa actualmente en torno a las 700.000 t/año y es posible exportar una cantidad similar a la que representa el consumo nacional.

Las posibilidades de exportación se apoyan en la precocidad del cultivo y en el tiempo seco con que se cosecha tradicionalmente la cebada en España. Estas condiciones permiten colocar en el mercado comunitario una cosecha de cebada nueva, con buena aptitud para germinar, en una fecha en que los países más septentrionales sólo puede disponer de cebada de la cosecha anterior, encarecidas con gastos de almacenamiento y con reducida calidad industrial.

Sin embargo, estas condiciones favorables sólo pueden conseguirse cuando se ofrece al mercado un producto de calidad irreprochable. Esto significa que las partidas han de presentar elevada pureza, correspondiente a variedades de reconocida aptitud cervecera, y mantener sus características independientemente de las condi-

ciones en que se haya desarrollado el cultivo o procesado los granos.

Como consecuencia de todo ello, el agricultor que quiera aprovechar estas condiciones favorables debe sembrar exclusivamente semillas certificadas correspondientes a variedades de reconocida aptitud cervecera y realizar el cultivo de acuerdo con las recomendaciones que se dicten para conseguir un producto de calidad. Solamente así, la cosecha obtenida podrá superar los índices de calidad exigidos por la industria cervecera.

En España, en el período 1980-1985, la cifra media que correspondiente a la cebada de seis carreras (caballares) era del 54%, mientras que la de dos carreras (Foto 2) era del 46%. A partir de 1986, la superficie ocupada por la cebada de dos carreras representa el 56% frente al 44% de la de seis carreras. Hasta 1953, la cebada utilizada para la fabricación de cerveza no presentaba ninguna característica que la distinguiera de la cebada pienso y la hiciera especialmente apta para el malteado. A partir de dicho año comenzaron las fábricas españolas a interesarse por la utilización de variedades especialmente seleccionadas para la fabricación de cervezas y, desde entonces, el cultivo de estas variedades ha aumentado extraordinariamente en España. La introducción de variedades modernas ha sido una constante, lo que ha permitido sustituir variedades antiguas con más de veinte años. Teniendo en cuenta el gran número de variedades utilizadas, su identificación pasó a ser más rigurosa y más detallada, sobre todo, cuando se trata de variedades para fabricación de cerveza.

(*) Departamento de Producción Vegetal: Fitotecnia. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid.

LA TECNICA DE LA ELECTROFORESIS

Las electroforesis, a partir de su utilización por ARNE TISSELIUS, en 1930, se convirtió en un método muy preciso para determinación de proteínas presentes en una mezcla, así como para enzimas, en base a las diferencias de sus cargas eléctricas y sus tamaños, los cuales afectan a su movilidad en un determinado campo eléctrico (ASQUITH, 1977).

Las proteínas son componentes celulares que ejercen un importante papel tanto estructural como funcional dentro de las células. En la cebada, la hordeína, la principal proteína de reserva del grano, ha sido intensamente estudiada a través de la electroforesis. Las técnicas de extracción y separación han sido refinadas a lo largo del tiempo, permitiendo el análisis de los diferentes tipos de hordeína (A, B, C y D). De los métodos electroforéticos adaptados a la identificación de cebada, se destaca la electroforesis en gel de poliacrilamida en medio ácido (Acid-PAGE), la electroforesis en gel de poliacrilamida en presencia de dodecil sulfato sódico (SDS-PAGE), el isoelectroenfoque (IEF) y la electroforesis bidimensional (WRIGLEY, 1992).

El fraccionamiento proteico a través de la electroforesis en gel, que se ha tomado cada vez más necesario para la mejor identificación de variedades de cebada, está fundamentado en el paso de una corriente eléctrica a través de un medio conductor (gel) en el que se aplica una mezcla de proteínas, que se separan en función de sus diferencias de cargas eléctricas y del tamaño de las moléculas.

La poliacrilamida es un polímero sintético que permite la separación de la molécula proteica en poros de aproximadamente 0,5 a 3,0 mm, en función del ajuste de la concentración total de acrilamida en la reacción de polimerización. Se trata de una sustancia hidrofílica que polimeriza en la presencia de radicales libres y de bisacrilamida para formar un gel cuyas propiedades son muy atractivas desde el punto de vista de la separación electroforética de proteínas (SHIELDS y otros 1983).

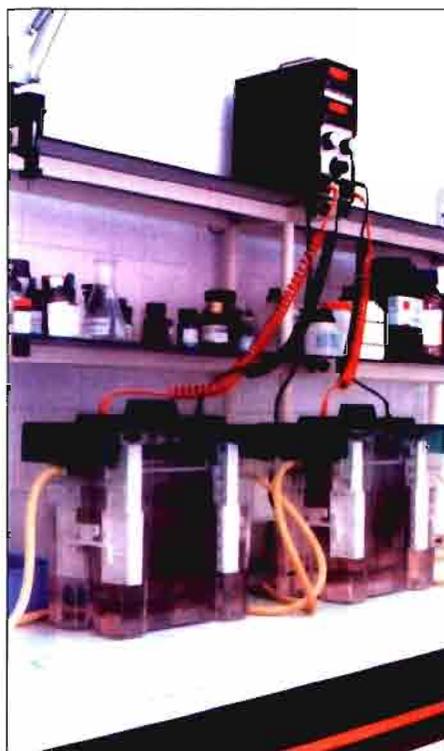
La caracterización de variedades de cereales por medio bioquímicos pasa a ser objeto de considerable atención. En el caso del análisis de proteínas de semillas, varias técnicas electroforéticas han sido utilizadas. Variedades de cebada fueron caracterizadas estudiando sus hordeínas por electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE), siguiendo varios métodos, de los cuales se destacó el conocido como SDS-PAGE.

La electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato sódico (SDS-PAGE) fue considerado un procedimiento que debe ser complementario y no sustituir las prácticas corrientes para la caracterización de variedades (SMITH y PAYNE, 1984).

Haciendo el análisis de hordeínas a través de la electroforesis en SDS-PAGE, JOUVE y otros (1990) prepararon un catálogo

de fenótipos de las 100 variedades españolas de cebada estudiadas, que presentaron hordeínas D, C y B (de mayor y menor peso molecular). Las bandas más frecuentes correspondieron a los tipos clasificados como: D2 (75%), C2-C3 (42%) y B7 (66%). Las variedades pertenecían al banco de germoplasma del INIA.

Variedades de cebada cultivadas fueron separadas en grupos monovarietales mediante el uso de la electroforesis en SDS-PAGE (URIBE-ECHEVERRIA y MOLINA CANO, 1993), método que permite la separación de proteínas por peso molecular con bastante precisión. Alrededor de 46 variedades ampliamente cultivadas o en fa-



Cubeta utilizada para el estudio de la electroforesis en SDS-PAGE.

se de introducción en la Península Ibérica fueron separadas en 25 grupos, de los cuales 13 monovarietales y 12 constituido por más de una variedad.

LA ELECTROFORESIS Y LA CALIDAD MALTERA

En los últimos 16 años (1978-1994), varios métodos han sido usados para determinar la calidad maltera de la cebada. Uno de esos métodos separa las proteínas por la electroforesis y relaciona los patrones de banda con la calidad de la malta.

La electroforesis en gel de hordeínas reveló patrones que eran característicos de cultivares de cebada (BAXTER y WAINWRIGHT, 1979) y la cantidad relativa de algu-

nas hordeínas (fracción B con peso molecular alrededor de 65.000) pareció correlacionarse con la calidad maltera. Conclusiones de SMITH (1984) indicaron que a través de la electroforesis en SDS-PAGE se evidencia una posible asociación entre las hordeínas D en cebada y la calidad maltera (cuando la concentración de la proteína total es superior al 9,5%).

Los patrones de banda electroforéticos obtenidos durante el malteo fueron relacionados con la calidad de la malta, para cebada de dos carreras, mostrándose que variedades de cebada pueden ser identificadas usando los métodos Acid-PAGE y SDS-PAGE (VILLIERS y LAUBSCHER, 1989). Estudios sobre la evaluación de la calidad maltera de la cebada, a través de la determinación de patrones electroforéticos, permitieron a DUIJNHOUWER y otros (1987) observar que las variedades con hordeína B tipo 4 fueron las que presentaron mejores valores para rendimiento del extracto, contenido de proteína, nitrógeno soluble y para otros índices de calidad.

Los índices de calidad que caracterizan cultivares de cebada de buena aptitud cervecera ya han sido bien establecidos, a través de detallados estudios analíticos realizados en granos de cebada, en la malta y en el mosto, cuyos valores indicativos se recogen en la tabla N° 1. También, se destaca el desarrollo del índice de calidad «Q» que es calculado con los siguientes parámetros: rendimiento en extracto, índice de Kolbach, atenuación límite, viscosidad y poder diastásico (MOLINA CANO, 1989). Los valores de Q varían de 1 a 9, siendo aquellos inferiores a 5 los correspondientes a cebadas pienso. Los valores comprendidos entre 5 y 7 corresponden a cebadas cerveceras de calidad moderada y los superiores a 7 caracterizan las cebadas de alta calidad.

Los índices de calidad referidos anteriormente (tabla N° 1) fueron objeto de estudios, en Japón, donde HE y otros (1993) hicieron una evaluación de la relación de algunos de ellos con los patrones electroforéticos. Estos autores separaron hordeínas usando la electroforesis en SDS-PAGE en 57 variedades de cebada de dos carreras. De los cuatro grupos identificados (A, B, C y D), las hordeínas B y C fueron responsables por distintos patrones electroforéticos que, a su vez, se encontraron estrechamente relacionados con la calidad maltera evaluada por el rendimiento del extracto, contenido de nitrógeno soluble, índice de Kolbach y poder diastásico.

Un trabajo de investigación (tesis doctoral) con el objetivo de contribuir al perfeccionamiento de la tecnología utilizada en la evaluación de la calidad maltera y cervecera de la cebada, viene siendo desarrollado dentro del convenio suscrito entre el Departamento de Producción Vegetal: Fito-tecnia y el Instituto Nacional de Semillas y Plantas de Viveros (INSPV). Se busca iden-

SEMILLAS • MEJORA VEGETAL

Tabla N° 1

VALORES INDICATIVOS DE BUENA CALIDAD CERVECERA

EN CEBADA Peso del hectólitro Calibre mayor de 2,5 mm Energía germinativa Humedad Proteína	Kg/Hl % % % %	> 66 > 80 > 90 < 12 9,5-11,5
EN MALTA Friabilidad Homogeneidad Humedad Proteína	% % % %	> 70 > 95 4-5,5 9,5-11
EN MOSTO Sacarificación Filtración pH Nitrógeno soluble Índice de Kolbach Rendimiento en extracto Viscosidad Atenuación límite	minutos minutos % % % % cP %	15-20 < 60 5-5,8 0,56-0,72 35-42 79-81 1,4-1,6 80

tificar las relaciones que puedan existir entre los índices de calidad definidos por la Convención de Fabricantes de Cerveza (EBC) y los patrones electroforéticos de las variedades.

Las técnicas de micromalteo son lentas (10-20 días) y la instalación de estaciones de micromalteo costosa. La electroforesis es más rápida (4-5 días) y la adquisición de los equipos es más económica.

Además, desde un punto de vista más científico, la electroforesis permite profundizar en el conocimiento de uno de los factores que más influyen en la calidad maltera: contenido y tipo de proteína.

Por esta razón, «si existe alguna correlación entre las clases de hordeinas y la calidad maltera, las técnicas electroforéticas podrán complementar al micromalteo».

BIBLIOGRAFIA

- ASQUITH, R.S. (1977). *Chemistry of natural protein fiber*. Plenum Publish Corp. N.Y. 409 p.
- BAXTER, E.D. y WAINWRIGHT, T. (1979). Hordein and malting quality. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 37 (1):8-12.
- DUJNHOUWER, I.D.C.; ANGELINO, S.A.G.F. y MOCKINGBODE, H.C.M. (1987). Use of polyacrylamide gel electrophoresis kin evaluating the quality of malting barley. *Joarboekje, Stichting Nederlands Instituut voor Brouwerst, Mout en Bier*, vol. 50:55-58.
- HE, K.; YOSHIDA, H.; SOUTOME, K.; KAJIWARA, H.; KPO-MATSU, S. y HIRANO, H. (1993). Relations between seed storage proteins and malting quality in two-rowed barley *Hordeum vulgare* L. *Japanese Journal of Breeding*, 43(1):81-89.
- JOUVE, N.; BERNARDO, A.; SANS, J. y SOLER, C. (1990). Discrimination between barley (*Hordeum vulgare* L.) varieties by electrophoresis. I. Analysis of hordeins by SDS-PAGE. *Investigación Agraria, Producción y Protección Vegetales*, 5(1):7-23.
- MOLINA CANO, J.L. (1989). *La cebada*. Mundi-Prensa, Madrid, 252 p.
- SHIELDS, C.R.; ORTON, J.J. y STUBER, C.W. (1983). An outline of general resource needs and procedure for electrophoretic separation of active enzymes. In: *Isoenzymes in plant genetics and breeding*. Part A. Elsevier Science Publishers, B.V. Amsterdam. p. 445-465.
- SMITH, D.B. (1984). Characterisation of cereal varieties by electrophoresis of endosperm proteins. *Analytical Proceedings*, 21(12):479-482.
- SMITH, D.B. y PAYNE, P.I. (1984). A procedure for the routine determination of electrophoretic band patterns of barley and malt endosperm proteins. *Journal of the National Institute of Agricultural Botany, UK*, 16(3):587-498.
- URIBE-ECHEVERRIA, M.T. y MOLINA CANO, J.L. (1993). Identificación y clasificación de ciertas variedades de cebada cultivadas en España. II: Electroforesis de hordeinas en gel de poliacrilamida. *Cereza y Malta*, 117, 1-11.
- VILLIERS, O.T. y LAUBSCHER, E.W. (1989). The use of electrophoretic techniques for the identification and determination of the malting quality of barley cultivars. *Proc. Congr. Eur. Brew. Conv.* 22:203-211.
- WRIGLEY, C.W. (1992). Identification of cereal varieties by gel electrophoresis of the grain proteins. In: *Modern Methods of Plant Analysis* (New Series), vol. 14, Seed Analysis, 17-41.



CLIP

Excelente nivel de aceite por hectárea.

Es un híbrido de **ciclo corto** muy homogéneo y estable de alta productividad.

Presenta un **contenido graso muy elevado** que lo hace destacar entre los de su ciclo.

Es resistente a mildiu (PI2) y a las razas A,B,C y D de jopo. Tiene el ciclo idóneo para los secanos de Andalucía y riegos de Albacete en 1ª y 2ª cosecha, Valle del Ebro y amplias zonas de Castilla León.

**Koipesol
Semillas**