

Ciências Biológicas e da Saúde:

Investigação
e Prática

Juan Carlos Cancino-Diaz
(organizador)

VOL II

 EDITORA
ARTEMIS
2023

Ciências Biológicas e da Saúde:

Investigação e Prática

Juan Carlos Cancino-Diaz
(organizador)

VOL II



**EDITORA
ARTEMIS**
2023



O conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons Atribuição-Não-Comercial NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0). Direitos para esta edição cedidos à Editora Artemis pelos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento, desde que sejam atribuídos créditos aos autores, e sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

A responsabilidade pelo conteúdo dos artigos e seus dados, em sua forma, correção e confiabilidade é exclusiva dos autores. A Editora Artemis, em seu compromisso de manter e aperfeiçoar a qualidade e confiabilidade dos trabalhos que publica, conduz a avaliação cega pelos pares de todos manuscritos publicados, com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

Editora Chefe	Prof. ^a Dr. ^a Antonella Carvalho de Oliveira
Editora Executiva	M. ^a Viviane Carvalho Mocellin
Direção de Arte	M. ^a Bruna Bejarano
Diagramação	Elisangela Abreu
Organizador	Prof. Dr. Juan Carlos Cancino-Díaz
Imagem da Capa	Pro500/123RF
Bibliotecário	Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

Conselho Editorial

Prof.^a Dr.^a Ada Esther Portero Ricol, *Universidad Tecnológica de La Habana “José Antonio Echeverría”*, Cuba
Prof. Dr. Adalberto de Paula Paranhos, Universidade Federal de Uberlândia
Prof.^a Dr.^a Amanda Ramalho de Freitas Brito, Universidade Federal da Paraíba
Prof.^a Dr.^a Ana Clara Monteverde, *Universidad de Buenos Aires*, Argentina
Prof.^a Dr.^a Ana Júlia Viamonte, Instituto Superior de Engenharia do Porto (ISEP), Portugal
Prof. Dr. Ángel Mujica Sánchez, *Universidad Nacional del Altiplano*, Peru
Prof.^a Dr.^a Angela Ester Mallmann Centenaro, Universidade do Estado de Mato Grosso
Prof.^a Dr.^a Begoña Blandón González, *Universidad de Sevilla*, Espanha
Prof.^a Dr.^a Carmen Pimentel, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof.^a Dr.^a Catarina Castro, Universidade Nova de Lisboa, Portugal
Prof.^a Dr.^a Cirila Cervera Delgado, *Universidad de Guanajuato*, México
Prof.^a Dr.^a Cláudia Neves, Universidade Aberta de Portugal
Prof.^a Dr.^a Cláudia Padovesi Fonseca, Universidade de Brasília-DF
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos, Universidade Federal da Grande Dourados
Prof. Dr. David García-Martul, *Universidad Rey Juan Carlos de Madrid*, Espanha
Prof.^a Dr.^a Deuzimar Costa Serra, Universidade Estadual do Maranhão
Prof.^a Dr.^a Dina Maria Martins Ferreira, Universidade Estadual do Ceará
Prof.^a Dr.^a Edith Luévano-Hipólito, *Universidad Autónoma de Nuevo León*, México
Prof.^a Dr.^a Eduarda Maria Rocha Teles de Castro Coelho, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Portugal
Prof. Dr. Eduardo Eugênio Spers, Universidade de São Paulo
Prof. Dr. Eloi Martins Senhoras, Universidade Federal de Roraima, Brasil
Prof.^a Dr.^a Elvira Laura Hernández Carballido, *Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo*, México

Prof.ª Dr.ª Emilas Darlene Carmen Lebus, *Universidad Nacional del Nordeste/ Universidad Tecnológica Nacional, Argentina*
Prof.ª Dr.ª Erla Mariela Morales Morgado, *Universidad de Salamanca, Espanha*
Prof. Dr. Ernesto Cristina, *Universidad de la República, Uruguay*
Prof. Dr. Ernesto Ramírez-Briones, *Universidad de Guadalajara, México*
Prof. Dr. Gabriel Díaz Cobos, *Universitat de Barcelona, Espanha*
Prof.ª Dr.ª Gabriela Gonçalves, Instituto Superior de Engenharia do Porto (ISEP), Portugal
Prof. Dr. Geoffroy Roger Pointer Malpass, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Brasil
Prof.ª Dr.ª Gladys Esther Leoz, *Universidad Nacional de San Luis, Argentina*
Prof.ª Dr.ª Glória Beatriz Álvarez, *Universidad de Buenos Aires, Argentina*
Prof. Dr. Gonçalo Poeta Fernandes, Instituto Politécnico da Guarda, Portugal
Prof. Dr. Gustavo Adolfo Juarez, *Universidad Nacional de Catamarca, Argentina*
Prof. Dr. Håkan Karlsson, *University of Gothenburg, Suécia*
Prof.ª Dr.ª Iara Lúcia Tescarollo Dias, Universidade São Francisco, Brasil
Prof.ª Dr.ª Isabel del Rosario Chiyon Carrasco, *Universidad de Piura, Peru*
Prof.ª Dr.ª Isabel Yohena, *Universidad de Buenos Aires, Argentina*
Prof. Dr. Ivan Amaro, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Brasil
Prof. Dr. Iván Ramon Sánchez Soto, *Universidad del Bío-Bío, Chile*
Prof.ª Dr.ª Ivânia Maria Carneiro Vieira, Universidade Federal do Amazonas, Brasil
Prof. Me. Javier Antonio Alborno, *University of Miami and Miami Dade College, Estados Unidos*
Prof. Dr. Jesús Montero Martínez, *Universidad de Castilla - La Mancha, Espanha*
Prof. Dr. João Manuel Pereira Ramalho Serrano, Universidade de Évora, Portugal
Prof. Dr. Joaquim Júlio Almeida Júnior, UniFIMES - Centro Universitário de Mineiros, Brasil
Prof. Dr. Jorge Ernesto Bartolucci, *Universidad Nacional Autónoma de México, México*
Prof. Dr. José Cortez Godinez, Universidad Autónoma de Baja California, México
Prof. Dr. Juan Carlos Cancino Diaz, Instituto Politécnico Nacional, México
Prof. Dr. Juan Carlos Mosquera Feijoo, *Universidad Politécnica de Madrid, Espanha*
Prof. Dr. Juan Diego Parra Valencia, *Instituto Tecnológico Metropolitano de Medellín, Colômbia*
Prof. Dr. Juan Manuel Sánchez-Yáñez, *Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, México*
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil
Prof. Dr. Leinig Antonio Perazolli, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Brasil
Prof.ª Dr.ª Livia do Carmo, Universidade Federal de Goiás, Brasil
Prof.ª Dr.ª Luciane Spanhol Bordignon, Universidade de Passo Fundo, Brasil
Prof. Dr. Luis Fernando González Beltrán, *Universidad Nacional Autónoma de México, México*
Prof. Dr. Luis Vicente Amador Muñoz, *Universidad Pablo de Olavide, Espanha*
Prof.ª Dr.ª Macarena Esteban Ibáñez, *Universidad Pablo de Olavide, Espanha*
Prof. Dr. Manuel Ramiro Rodríguez, *Universidad Santiago de Compostela, Espanha*
Prof.ª Dr.ª Márcia de Souza Luz Freitas, Universidade Federal de Itajubá, Brasil
Prof. Dr. Marcos Augusto de Lima Nobre, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Brasil
Prof. Dr. Marcos Vinicius Meiado, Universidade Federal de Sergipe, Brasil
Prof.ª Dr.ª Mar Garrido Román, *Universidad de Granada, Espanha*
Prof.ª Dr.ª Margarida Márcia Fernandes Lima, Universidade Federal de Ouro Preto, Brasil
Prof.ª Dr.ª Maria Aparecida José de Oliveira, Universidade Federal da Bahia, Brasil
Prof.ª Dr.ª Maria Carmen Pastor, *Universitat Jaume I, Espanha*
Prof.ª Dr.ª Maria do Céu Caetano, Universidade Nova de Lisboa, Portugal
Prof.ª Dr.ª Maria do Socorro Saraiva Pinheiro, Universidade Federal do Maranhão, Brasil
Prof.ª Dr.ª Maria Lúcia Pato, Instituto Politécnico de Viseu, Portugal



Prof.^a Dr.^a Maritza González Moreno, *Universidad Tecnológica de La Habana*, Cuba
Prof.^a Dr.^a Mauriceia Silva de Paula Vieira, Universidade Federal de Lavras, Brasil
Prof.^a Dr.^a Ninfa María Rosas-García, Centro de Biotecnología Genómica-Instituto Politécnico Nacional, México
Prof.^a Dr.^a Odara Horta Boscolo, Universidade Federal Fluminense, Brasil
Prof. Dr. Osbaldo Turpo-Gebera, *Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa*, Peru
Prof.^a Dr.^a Patrícia Vasconcelos Almeida, Universidade Federal de Lavras, Brasil
Prof.^a Dr.^a Paula Arcoverde Cavalcanti, Universidade do Estado da Bahia, Brasil
Prof. Dr. Rodrigo Marques de Almeida Guerra, Universidade Federal do Pará, Brasil
Prof. Dr. Saulo Cerqueira de Aguiar Soares, Universidade Federal do Piauí, Brasil
Prof. Dr. Sergio Bitencourt Araújo Barros, Universidade Federal do Piauí, Brasil
Prof. Dr. Sérgio Luiz do Amaral Moretti, Universidade Federal de Uberlândia, Brasil
Prof.^a Dr.^a Sílvia Inés del Valle Navarro, *Universidad Nacional de Catamarca*, Argentina
Prof.^a Dr.^a Solange Kazumi Sakata, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. Universidade de São Paulo (USP), Brasil
Prof.^a Dr.^a Stanislava Kashtanova, *Saint Petersburg State University*, Russia
Prof.^a Dr.^a Teresa Cardoso, Universidade Aberta de Portugal
Prof.^a Dr.^a Teresa Monteiro Seixas, Universidade do Porto, Portugal
Prof. Dr. Valter Machado da Fonseca, Universidade Federal de Viçosa, Brasil
Prof.^a Dr.^a Vanessa Bordin Viera, Universidade Federal de Campina Grande, Brasil
Prof.^a Dr.^a Vera Lúcia Vasilévski dos Santos Araújo, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Brasil
Prof. Dr. Wilson Noé Garcés Aguilar, *Corporación Universitaria Autónoma del Cauca*, Colômbia
Prof. Dr. Xosé Somoza Medina, *Universidad de León*, Espanha

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)**

C569 Ciências Biológicas e da Saúde: Investigação e Prática II [livro eletrônico] / Organizador Juan Carlos Cancino-Díaz. – Curitiba, PR: Artemis, 2023.

Formato: PDF
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader
Modo de acesso: World Wide Web
Inclui bibliografia
Edição bilíngue
ISBN 978-65-87396-75-0
DOI 10.37572/EdArt_250223750

1. Ciências biológicas. 2. Saúde. I. Cancino-Díaz, Juan Carlos.
CDD 570

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422



PRÓLOGO

Las ciencias biológicas abarcan diferentes disciplinas, entre ellas la medicina, la epidemiología, la biotecnología y hasta el medio ambiente; que se relacionan con otras ciencias que estudian la salud como la antropología médica. Estas aportan las bases científicas para el mejoramiento de la vida y la salud. En la actualidad, hay un gran interés sobre nuevas investigaciones en ciencias biológicas que ayudan a contestar diferentes inquietudes ocurridas en la vida cotidiana. En este libro, constituido por 16 capítulos, se enfoca en las disciplinas de la salud, la disciplina biotecnológica y la disciplina del medio ambiente.

En la disciplina “Salud y Prácticas”, dos artículos están vinculados a desafíos para los profesionales de la salud, uno sobre el manejo de la muerte y otro sobre la maternidad transnacional, en sus aspectos psicosociales y culturales. Estos trabajos son importantes porque demuestran la importancia de actitudes de humanización y empatía por parte de los profesionales de la salud, como parte de sus habilidades y competencias para un abordaje profesional de la muerte y de la maternidad transnacional.

Por otro lado, capítulos que abordan sobre el tópico neurológico están incluidos en esta área: uno de ellos está dirigido a los niños sordos y la aportación del sentido de su vista para el mejoramiento de su salud, y el otro artículo está relacionado con los masajes para el tratamiento de los pacientes con lumbalgia y cialgia. Finalizan esta sección trabajos sobre la rehabilitación motora para los pacientes con enfermedad de Huntington, así como un artículo sobre la cadencia musical en la hidrogimnasia y un estudio relacionado con el uso de cannabis para el tratamiento de las enfermedades crónicas. Sin duda, estas aportaciones son de gran interés para el área de la salud.

Un estudio de epidemiología sobre la enfermedad de Chagas en mujeres de edad fértil en el Centro de Atención Primaria de la Salud, en la Cañada (Argentina), demuestra que en algunos lugares la prevalencia de esta enfermedad es alta.

En biotecnología se reportan capítulos sobre el impacto de la malta hacia la actividad de proteasas, la producción de proteína de forraje en *Clitoria* spp, el aislamiento de bacterias celulolíticas y xilanolíticas en Cachiyacu de Lupuna en Perú, y por último una evaluación del efecto gastroprotector de *Anacyclus radiatus*. Estos trabajos aportan investigación nueva sobre aspectos biotecnológicos.

En la parte del medio ambiente, un estudio enfocado sobre la relación del cobre con la fotosíntesis de microalgas, otro capítulo sobre control biológico de *Spodoptera* sp. y dos trabajos sobre el uso de sensores remotos y aplicación en lagos de Chile y la identificación de tóxicos en efluentes urbanos.

El libro está dirigido a la comunidad médica y científica que aporta información relevante en el área de ciencias biológicas; el lector puede tener una visión general de la investigación de estas áreas y comprender la complejidad y diversidad de tópicos relacionados con la biología y la salud.

Juan Carlos Cancino-Díaz

SUMÁRIO

SALUD Y PRÁCTICAS

CAPÍTULO 1..... 1

EDUCAÇÃO PARA A MORTE ENTRE PROFISSIONAIS DA SAÚDE: REVISÃO INTEGRATIVA DE LITERATURA

Wilians Robson da Silva

Luciana Xavier Senra

 https://doi.org/10.37572/EdArt_2502237501

CAPÍTULO 2..... 15

MATERNIDAD TRANSNACIONAL: UN DESAFÍO PARA LOS SERVICIOS SANITARIOS

Carolina Garzón-Esguerra

Lourdes Moro-Gutiérrez

 https://doi.org/10.37572/EdArt_2502237502

CAPÍTULO 3.....27

CONTRIBUTOS DA ATENÇÃO VISUAL NA PROMOÇÃO DA SAÚDE DE CRIANÇAS SURDAS

João Dele

Anabela Maria Sousa Pereira

Paula Ângela Coelho Henriques dos Santos

Paulo Jorge Pereira Alves

 https://doi.org/10.37572/EdArt_2502237503

CAPÍTULO 4..... 36

MASAJE NEUROREFLEJO EN EL TRATAMIENTO DE PACIENTES CON LUMBALGIA Y CIATALGIA

Marcos Elpidio Pérez Ruiz

 https://doi.org/10.37572/EdArt_2502237504

CAPÍTULO 5..... 48

PROGRAMAS DE REABILITAÇÃO MOTORA NA PESSOA COM DOENÇA DE HUNTINGTON: REVISÃO SISTEMÁTICA DE EFICÁCIA

Susana Marisa Loureiro Pais Batista

Hugo Rafael Moita dos Santos

Rosa Maria Lopes Martins

Carlos Manuel Sousa Albuquerque
Alexandra Isabel Marques da Costa Dinis

 https://doi.org/10.37572/EdArt_2502237505

CAPÍTULO 6..... 68

THE INFLUENCE OF MUSIC CADENCE ON KINETIC VARIABLES DURING WATER FITNESS EXERCISES

Catarina Costa Santos

Mário Jorge Costa

Luís Manuel Rama

 https://doi.org/10.37572/EdArt_2502237506

CAPÍTULO 7.....78

USO TERAPÉUTICO DA *CANNABIS SATIVA* NO TRATAMENTO DE DOENÇAS CRÔNICAS

Vaneide Ediele Duarte Martins

Marta de Oliveira Barreiro

Ilka Kassandra Pereira Belfort

Viviane Sousa Ferreira

Vanessa Edilene Duarte Martins

 https://doi.org/10.37572/EdArt_2502237507

EPIDEMIOLOGÍA

CAPÍTULO 8..... 90

“PREVALENCIA DE CHAGAS MAZZA EN MUJERES EN EDAD FÉRTIL EN EL CAPS DE LA CAÑADA” LA RIOJA. ARGENTINA

Jesica Elizabeth Morey Herrera

Heliana Hebe Valdez

María José Cabral

 https://doi.org/10.37572/EdArt_2502237508

BIOTECNOLOGÍA

CAPÍTULO 9..... 99

EL TIPO DE MALTA IMPACTA EN EL PERFIL Y ACTIVIDAD DE PROTEASAS

Claudia Berenice López-Alvarado

Jessica Giselle Herrera-Gamboa

Jorge Hugo García-García
César Ignacio Hernández-Vásquez
Esmeralda Pérez-Ortega
Luis Cástulo Damas-Buenrostro
Benito Pereyra-Alfárez

 https://doi.org/10.37572/EdArt_2502237509

CAPÍTULO 10..... 116

HORMESIS UNDER OIL-INDUCED STRESS IN *CLITORIA* SPP USED FOR FORAGE PROTEIN PRODUCTION IN SOUTHEASTERN MEXICO

María del Carmen Rivera-Cruz
Mariana Valier-Mago
Antonio Trujillo-Narcía

 https://doi.org/10.37572/EdArt_25022375010

CAPÍTULO 11.....138

BACTERIAS CELULOLÍTICAS Y XILANOLÍTICAS AISLADAS DE LAS SALINAS DE CACHIYACU DE LUPUNA EN PERÚ

Elizabeth Liz Chávez Hidalgo

 https://doi.org/10.37572/EdArt_25022375011

CAPÍTULO 12 149

ESTUDIO FITOQUÍMICO Y EVALUACIÓN PRELIMINAR DEL EFECTO GASTROPROTECTOR DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *ANACYCLUS RADIATUS*

Jaime Cardoso Ortiz
Ana Isabel Alvarado Sandoval
Saúl Eduardo Noriega Medellín
María Argelia López Luna

 https://doi.org/10.37572/EdArt_25022375012

MEDIO AMBIENTE

CAPÍTULO 13..... 164

INVESTIGAÇÃO SOBRE A RELAÇÃO DO COBRE COM A FOTOSÍNTESE EM MICROALGAS: ESTUDO DE CASO UTILIZANDO *SCENEDESMUS QUADRICAUDA*

Rafael Barty Dextro
Jaqueline Carmo da Silva

 https://doi.org/10.37572/EdArt_25022375013

CAPÍTULO 14.....174

ESTRATEGIAS PARA EL CONTROL DE *Spodoptera* sp.

Ninfa María Rosas-García

Jesús Manuel Villegas-Mendoza

Maribel Mireles-Martínez

Jorge Alberto Torres-Ortega

 https://doi.org/10.37572/EdArt_25022375014

CAPÍTULO 15.....186

USO DE SENSORES REMOTOS Y SUS APLICACIONES EN ESTUDIOS DE LAGOS CHILENOS

Patricio R. de los Ríos-Escalante

Ángel Contreras

Gladys Lara

Mirtha Latsague

Carlos Esse

 https://doi.org/10.37572/EdArt_25022375015

CAPÍTULO 16.....195

IDENTIFICACIÓN DE FRACCIONES TÓXICAS EN EFLUENTES URBANOS LÍQUIDOS

Ingrid Violeta Poggio Herrero

Guido Mastrantonio Garrido

Andrés Atilio Porta

 https://doi.org/10.37572/EdArt_25022375016

SOBRE O ORGANIZADOR.....209

ÍNDICE REMISSIVO210

CAPÍTULO 9

EL TIPO DE MALTA IMPACTA EN EL PERFIL Y ACTIVIDAD DE PROTEASAS¹

Data de submissão: 30/01/2023

Data de aceite: 17/01/2023

Claudia Berenice López-Alvarado

Instituto de Biotecnología
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad Autónoma de Nuevo León
San Nicolás de los Garza
Nuevo León, México
ORCID: 0000-0002-9797-0120

Jessica Giselle Herrera-Gamboa

Instituto de Biotecnología
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad Autónoma de Nuevo León
San Nicolás de los Garza
Nuevo León, México
ORCID: 0000-0002-1524-7386

Jorge Hugo García-García

Instituto de Biotecnología
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad Autónoma de Nuevo León
San Nicolás de los Garza
Nuevo León, México
ORCID: 0000-0001-8758-9919

¹ FUENTE DE FINANCIAMIENTO: Agradecemos al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por su apoyo financiero a través del proyecto apoyado por el Programa de Estímulos a la Investigación, Desarrollo Tecnológico e Innovación. CB. López-Alvarado y JG. Herrera-Gamboa recibieron becas CONACYT.

César Ignacio Hernández-Vásquez

Instituto de Biotecnología
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad Autónoma de Nuevo León
San Nicolás de los Garza
Nuevo León, México
ORCID: 0000-0002-2067-1122

Esmeralda Pérez-Ortega

Laboratorio de Investigación y
Desarrollo, Cervecería Cuauhtémoc
Moctezuma S. A de C. V.
Monterrey, Nuevo León, México

Luis Cástulo Damas-Buenrostro

Laboratorio de Investigación y
Desarrollo, Cervecería Cuauhtémoc
Moctezuma S. A de C. V.
Monterrey, Nuevo León, México

Benito Pereyra-Alfárez²

Instituto de Biotecnología
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad Autónoma de Nuevo León
San Nicolás de los Garza
Nuevo León, México
ORCID: 0000-0002-3726-0389

RESUMEN: La cebada malteada representa el principal componente del mosto cervecero y las enzimas proteasas juegan un papel fundamental en la calidad. Fue comparada la actividad proteolítica en cebadas malteadas,

² Autor correspondiente.

cultivadas bajo condición de riego (D1) y temporal (D3). La mayor actividad proteolítica se presentó a pH 7.0 (26.5 UAE/mg) para D1 y pH 5.0 (22.7 UAE/mg) para D3. Entre las proteasas observadas, sobresale una metaloproteína ca. 150 kDa en D1, mientras que D3 presentó una cisteinil proteasa ca. 37 kDa. El análisis de los mostos reveló mayor concentración de FAN (350 mg/L) y proteína soluble (700 mg/L) para D1 contra 273 mg/L de FAN y 400 mg/L de proteína para D3. La concentración de dimetil sulfuro (DMS) total fue de 172 ppb y 63 ppb para D1 y D3, respectivamente. Estos datos correlacionan con la cantidad (ppm) y perfil de aminoácidos, especialmente de ácido aspártico (5.13) y metionina (2.84) en D1 contra 4.17 y 2.02 en D3. Con respecto a los azúcares fermentables, D3 tuvo mayor porcentaje (p/p) de maltosa (6.1%), maltotriosa (1.3%) y fructosa (0.2%). La malta D3 proporciona mejores características al mosto.

PALABRAS CLAVE: Cebada malteada. Zimogramas. Hidrolasas. Calidad de la malta.

DIFFERENT TYPES OF MALT IMPACT ON THE PROFILE AND ACTIVITY OF PROTEOLYTIC ENZYMES

ABSTRACT: Malted barley represents the main component of the brewing wort. The proteolytic and diastatic activity of the malted barley cultivated under irrigation (D1) and rainy (D3) conditions was compared. The highest proteolytic activity was obtained at pH 7.0 (26.5 EAU/mg) for D1 and pH 5.0 (22.7 UAE/mg) for D3. The proteases included a metalloproteinase with a molecular weight of ~150 kDa and an amylase of ~20 kDa. D3 contained a cysteinyl protease of ~37 kDa and two amylases of ~30-35 kDa. The analysis of the wort revealed higher free amino nitrogen (FAN) (350 mg/L) and soluble protein (700 mg/L) concentrations in D1 compared to 273 mg/L of FAN and 400 mg/L of protein in D3. The total dimethyl sulfide concentration was 172 ppb and 63 ppb in D1 and D3, respectively. These data correlate with the quantity and profile of amino acids, particularly aspartic acid (5.13 ppm) and methionine (2.84 ppm) in D1 compared with 4.17 ppm and 2.02 ppm in D3. The best diastatic activity occurred at pH 5.0-7.0 in both malts. Regarding the fermentable sugars, D3 had a higher percentage (w/w) of maltose (6.1%), maltotriose (1.3%) and fructose (0.2%). Malt D3 has better quality characteristics for beer production.

KEYWORDS: Malted barley. Zymograms. Hydrolases. Malt quality.

1 INTRODUCCIÓN

La cebada (*Hordeum vulgare*) es uno de los cereales más cultivados en el mundo y es ampliamente utilizado para las industrias de alimentos y bebidas (Guo et al., 2016). La cebada tiene el potencial de modificar las proteínas del endospermo, para adaptar su metabolismo y contenido enzimático (Wang et al., 2004). Esto le permite tener una gran capacidad de adaptación a diferentes condiciones ambientales y de estrés biótico y abiótico, como son la limitación de agua y suelos salinos (Ouda y Gaballah, 2007). En México, la cebada es producida en dos ciclos de cultivo: primavera-verano (temporal) y otoño-invierno (riego). Actualmente, seis variedades corresponden a más del 70% de la producción total anual y son destinadas a la industria cervecera por su alta calidad:

Armida, Adabella, Esmeralda, Alina, Esperanza y Doña Josefa (Fernández, 2013). En la industria cervecera, la cebada es el principal ingrediente para la preparación del mosto fermentable y sus características bioquímicas estarán relacionadas con la calidad de la cerveza. La cebada antes de ser utilizada en el proceso cervecero debe ser sometida a un proceso de malteado, con el fin de activar las enzimas necesarias para transformar proteínas y almidones del endospermo, en nutrientes para la levadura. Las proteínas, almidones y enzimas en el grano de malta definirán la calidad de la malta y de la cerveza final, y dependerán de la variedad de cebada, condiciones de cultivo y proceso de malteado (Fang et al., 2019). Las proteasas de la malta determinan el tipo y concentración de aminoácidos en el mosto. Estos, serán metabolizados por la levadura, definiendo los sabores y olores en la cerveza. Las enzimas tienen un impacto en el desarrollo de métodos de malteo, durante el proceso se generan cuatro endoproteasas estables a 38 °C e inactivadas a 72°C. La actividad proteolítica está involucrada en los niveles de FAN (amino nitrógeno libre), mejoran la extracción de los azúcares fermentables al degradar las proteínas inhibitoras de la dextrinasa limitante y la β -amilasa (Hu et al., 2014). Actividades de tipo serino proteasas y aminopeptidasas pueden estar relacionadas a la generación de proteínas activas formadoras de turbidez (Jones, 2001). Diversos autores han diferenciado y comparado variedades de cebada malteada empleando zimogramas, con el fin de estudiar los perfiles enzimáticos y caracterizando bioquímicamente los sistemas hidrolíticos para encontrar enzimas que sirvan como marcadores de calidad de la cebada malteada (Wrobel y Jones, 1992). La obtención de un marcador de calidad podría ahorrarle a la industria cervecera una cantidad sustancial por año. La identificación de las enzimas presentes en la malta y el estudio bioquímico de su actividad (niveles de pH, temperatura, tiempo, etc.) podría dar la información necesaria para que los cerveceros ajusten de manera eficiente sus procesos, evitando operaciones innecesarias de acuerdo con el tipo de materia prima utilizada (López et al., 2016). En el presente estudio, se compararon bioquímicamente los perfiles hidrolíticos de dos cebadas malteadas del mismo genotipo, cultivadas bajo diferentes condiciones de riego, con el propósito de analizar diferencias entre condiciones y su relación con los parámetros de calidad del mosto y la cerveza.

2 MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 MUESTRAS BIOLÓGICAS

Fueron evaluadas dos cebadas malteadas (*Hordeum vulgare L.*) del mismo genotipo (nombradas como D1 y D3 respectivamente) cultivadas bajo diferentes condiciones de cultivo, las cuales fueron proporcionadas por Cervecería Cuauhtémoc Moctezuma

(CCM), México. Las muestras fueron almacenadas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su uso. Adicionalmente, fue utilizada la malta comercial 2-ROW como control, obtenida de la empresa Malteurop (Milwaukee, WI, USA).

2.2 EXTRACCIÓN DE PROTEÍNAS

Las muestras de malta (10 g) fueron molidas hasta un polvo fino ($<50\text{ }\mu\text{m}$) usando un molino de marca Foss Cyclotec 1093. Las proteínas fueron extraídas con buffer de extracción (Tris-HCl 25 mM; MgCl_2 5 mM pH 7.5), según lo reportado por López et al. (2016). La concentración de proteína soluble total se determinó mediante el método de Bradford.

2.3 EFECTO DEL PH EN LAS HIDROLASAS PRESENTES EN LA CEBADA MALTEADA

La evaluación del efecto del pH sobre la actividad enzimática tipo amilasa fue realizada en microplaca de 96 pozos de acuerdo con la metodología descrita por Oliveira et al. (2019), con algunas modificaciones. Las pruebas fueron realizadas bajo diferentes condiciones de pH utilizando buffer de acetato de sodio 0.05 M (pH 3.0, 4.0 y 5.0) y buffer de fosfato de sodio 0.1 M (pH 6.0, 7.0 y 9.0). En cada pozo fueron colocados: 20 μl de cada buffer a sus respectivos niveles de pH, 10 μl de solución de almidón de papa al 0.2 % y 10 μl de cada muestra. La microplaca fue incubada a $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 30 min. Terminado el tiempo de incubación, fueron añadidos 30 μl de la solución de Lugol a una dilución 1:10 y 170 μl de agua bidestilada. Finalmente, la microplaca fue leída a 595 nm. El efecto del pH en la actividad de proteasa fue realizada de acuerdo con la metodología descrita por Secades y Guijarro (1999) con algunas modificaciones. Para este ensayo fue empleada azocaseína 1.0 % como sustrato disuelta en buffer Tris-HCl 25 mM con MgCl_2 5mM en un rango de pH de 3.0 a 11.0. A 60 μl de cada muestra de malta fueron agregados 240 μl de azocaseína 1.0 %, mezclados por vórtex e incubadas a 40°C por 30 min. La reacción fue detenida con 300 μl de TCA 10 %, incubado en hielo por 30 min y centrifugación a 15,000 g por 10min a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Pasado el tiempo fueron tomados 400 μl del sobrenadante y fueron neutralizados con 100 μl de NaOH 1.8 N. Finalmente, se leyó la absorbancia a 420 nm. Una unidad de actividad enzimática se definió como la cantidad que produjo un aumento en A420 de 0.01 en 30 min a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$. Se realizaron triplicados biológicos para todas las pruebas.

2.4 ACTIVIDAD PROTEOLÍTICA

La actividad enzimática fue evaluada mediante zimogramas de una dimensión como lo describen Herrera et al. (2018) y López et al. (2016) con algunas modificaciones.

En resumen, las muestras fueron ajustadas a 100 µg/µl de proteína total soluble y mezcladas con el buffer de corrida (125 mM Tris-HCl pH 6.8, glicerol 24 % [v/v], 0.02% [w/v] azul de bromofenol y 1 % SDS), la separación se realizó en geles de poliacrilamida al 10 % en condiciones reductoras (1 % SDS) copolimerizado con 0.1 % [p/v] de gelatina (actividad proteasa) (Sigma, San Luis, Misuri, USA). Los geles fueron corridos a 50 voltios y 4 °C hasta que el frente del azul de bromofenol alcanzó el límite inferior del gel. Para la actividad de proteasas, las proteínas fueron renaturalizadas incubando los geles en agitación moderada durante 40 min en solución de tritón X-100 al 2.5 %. Posteriormente, los geles fueron lavados con agua bidestilada para quitar el exceso de tritón. Para la activación de las enzimas de tipo proteasas, los geles fueron incubados durante toda la noche a 40 °C en buffer Tris-HCl 25 mM, MgCl₂ 5 mM en un rango de pH de 4.0 a 7.5. Para estos ensayos empleamos enzimas comerciales como control: tripsina de páncreas bovino (Cas. T1426) y bromelina de tallo de piña (Cas. B4882). Las enzimas fueron adquiridas de la compañía Sigma, San Luis, Misuri, (USA). Posteriormente, fueron realizados ensayos de inducción, para esto se empleó una concentración de proteína soluble de 200 µg/µl, suplementada con ácido giberélico a 10 µM e incubadas por 96 h a 4 °C (Koehler y Ho, (1988)). Después, 20 µl de volumen final de la reacción fueron combinados con buffer de corrida y corridos en zimogramas bajo las mismas condiciones descritas anteriormente. La actividad de proteasa fue revelada con tinción de azul brillante de Coomassie R250, fue observada por las bandas claras sobre el fondo del gel. Todos los zimogramas se realizaron por triplicado.

2.5 ELABORACIÓN Y EVALUACIÓN DE MOSTOS 100 % CEBADA MALTEADA

Los mostos (mosto D1 y mosto D3) fueron preparados en el laboratorio de acuerdo con *limure et al.* (2012); 50 g de cebada malteada (malta D1 y malta D3) fueron mezclados con 200 ml de agua bidestilada desionizada. La mezcla se calentó a 45 °C por 30 min. Después la temperatura se incrementó a 70 °C (1 °C/min) y se agregaron 100 ml de agua bidestilada desionizada e incubada a 70 °C por 60 min. Finalmente, el mosto fue enfriado hasta temperatura ambiente (22 °C), filtrado y ebulldido durante 15 min. En cada cambio de temperatura, 5 ml de mosto fueron tomados y almacenados a -20 °C para su posterior análisis. La evaluación de los parámetros fue realizada siguiendo los métodos analíticos oficiales de la American Society of Brewing Chemists (Métodos de análisis ASBC) por el laboratorio de CCM. Las muestras de cada mosto fueron tomadas en condiciones asépticas.

2.5.1 Nitrógeno amino libre (FAN)

Fue utilizado el método colorimétrico de ninhidrina para determinar la cantidad de FAN en el mosto. (Método de Wort-12). Los mostos (1 ml) se diluyeron a 100 ml con agua destilada y 2 ml de la dilución fueron transferidos a tubos de ensayo por triplicado. Después, se añadió 1 ml de reactivo de ninhidrina (Na_2HPO_4 2.8 mM, ninhidrina 0.3 mM, KH_2PO_4 4.4 mM, pH 6.6 – 6.8) a cada muestra y se colocó en un baño de agua hirviendo durante 16 minutos. La reacción se dejó enfriar durante 20 min en un baño de agua a 20 °C. Posteriormente, fueron añadidos 5 ml de la solución de dilución (KIO_3 9.4 mM, etanol al 38.4 %) a cada muestra. Después de mezclar bien la reacción, la absorbancia es medida a 570 nm contra agua bidestilada. Fue utilizada solución de glicina 0.14 mM como solución estándar. Para los cálculos se utilizó la siguiente fórmula: $\text{FAN (mg/ml)} = (\text{absorbancia neta de la solución de prueba} / \text{absorbancia neta de la solución estándar}) \times 2 \times \text{dilución}$.

2.5.2 Determinación de azúcares en el mosto

Las muestras de mosto fueron analizadas por HPLC Agilent 1100 con detección ELSD. El solvente de HPLC fue 75 % de acetonitrilo en agua, a una tasa de flujo de 1 ml/min utilizando una columna de hidratos de carbono de Alltech de 4.6 mm × 250 mm. El ELSD se ajustó a un caudal de nitrógeno de 2 ml/min (a 87 ° DO). Las mediciones fueron realizadas por duplicado.

2.5.3 Color

El color fue determinado siguiendo el método Beer-10. 100 ml de volumen final de mosto es filtrado y mezclado con 5 g de tierra de diatomeas grado analítico. Se deja reposar por 5 min y se filtra nuevamente para clarificar completamente el mosto. La absorbancia se mide a 430 nm en una cubeta de espectrofotómetro (1/2 in.). El color es calculado por la fórmula: $\text{Color} = 10 (\text{Absorbancia en } \frac{1}{2} \text{ cubeta a } 430 \text{ nm})$.

2.5.4 pH

La concentración de iones hidrógeno se mide empleando un potenciómetro a temperatura ambiente.

2.5.5 Viscosidad

La viscosidad de los mostos se midió de acuerdo con el método Wort-13. Este método calcula la viscosidad absoluta o dinámica (en unidades centipoise) utilizando un viscosímetro Ostwald, con un rango de agua de 50 - 150 s y de acuerdo con el principio

de Hoesppler al medir el tiempo de rodadura de una bola a través de un capilar de vidrio inclinado lleno de 5 ml de agua o mosto a 20 °C. Cálculos: Viscosidad = Tiempo de flujo de mosto x Densidad de mosto x 1.002.

2.5.6 Análisis de aminoácidos libres

Fue determinado el perfil y concentración de aminoácidos presentes en cada mosto mediante el método de AccQ Tag Waters, utilizando el reactivo AccQ Flour (6-aminoquinolyl-N-hydroxisuccinimidyl carbamato, AQC); seguido de cromatografía de líquidos de alto desempeño reversa (High Performance Liquid Chromatography, HPLC||) para separar los derivados; finalmente, la cuantificación se realizó por medio de un detector de fluorescencia a 395 nm.

2.5.7 Determinación de DMS (libre, total y precursor)

Para la determinación de dimetil sulfuro (DMS) en mosto se emplea la cuantificación por cromatografía de gases acoplada a Headspace (HS/GC). Para la medición de DMS libre se utilizó directamente el mosto, mientras que para DMS-p (DMS precursor) se realizó un pretratamiento térmico en rotavapor con la adición de hidróxido de sodio, esto convierte los DMS-p en DMS, luego la solución se mide con HS/GC utilizando una columna GS-Q. El DMS total es la suma del DMS libre y DMS-p.

2.5.8 Monitoreo de las hidrolasas presentes en los mostos 100 % cebada malteada

Para el monitoreo de las hidrolasas presentes en los mostos 100 % cebada malteada fue empleada la metodología descrita en la sección 2.4.

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

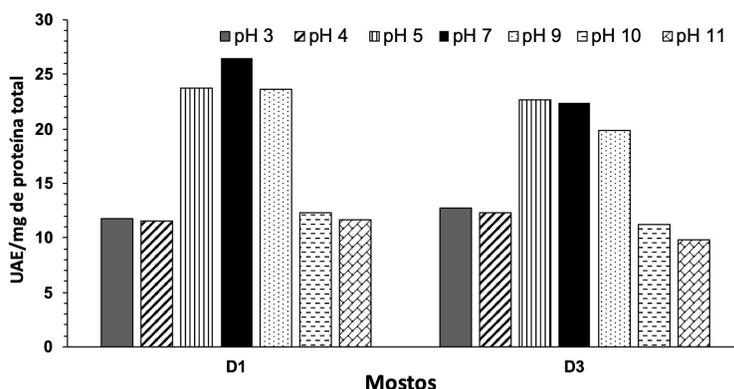
3.1 PARÁMETROS DE CALIDAD DE LA MALTA CERVECERA

Las características bioquímicas de la cebada malteada influirán directamente sobre la elaboración y calidad de la cerveza. En este trabajo, caracterizamos dos maltas cerveceras y relacionamos sus características con la calidad del mosto. Las cebadas malteadas provienen de diferentes ciclos de cultivo (invierno y verano), ambas son comúnmente empleadas en la industria cervecera en México. Las diferencias en sus perfiles bioquímicos influirán en los siguientes parámetros: enzimas, concentración de proteína total soluble, niveles FAN, viscosidad, color, DMS, perfil de aminoácidos y de azúcares.

3.2 EFECTO DEL PH

El efecto del pH fue medido con el fin de caracterizar las proteasas presentes en dos maltas, nombradas D1 y D3, en un rango de 3.0 a 11.0. Ambas presentaron mayor actividad enzimática entre pH 5.0 a 9.0 (Fig. 1). Esto resultados demuestran que las maltas contienen proteasas ácidas (tipo cisteinil y aspártico proteasas) y alcalinas (tipo serino proteasas, carboxipeptidasas y aminopeptidasas) y coincide con lo reportado por Jones y Marinac (2002). La malta D3 presentó un mayor contenido de enzimas ácidas, mientras que la malta D1 contiene mayor contenido de enzimas alcalinas.

Figura 1. Efecto del pH en la actividad de proteasa en muestras de malta.

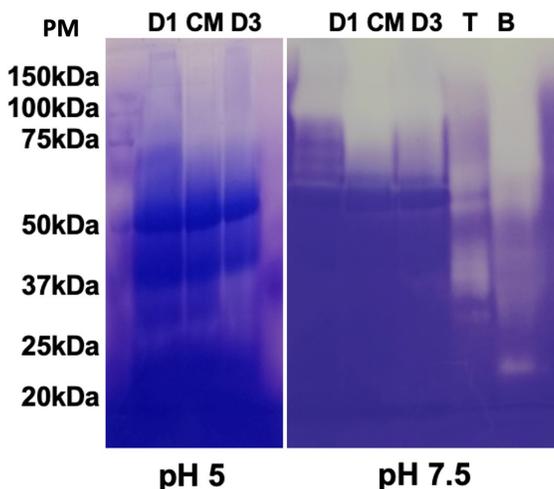


3.3 ACTIVIDAD PROTEOLÍTICA

La cebada contiene reservas de nutrientes, almidón y proteínas, que son necesarios para su desarrollo. Durante el malteado son activadas las enzimas que convertirán estas reservas en nutrientes asimilables por la levadura, logrando un buen desempeño durante la fermentación (Schmitt y Marinac, 2008). Cada malta varía de acuerdo con su variedad y condición de cultivo, por eso es necesario entender los sistemas hidrolíticos presentes en cada una. Con este estudio, ayudaremos a predecir el desempeño de la fermentación y tomar acciones preventivas, ya sea combinando lotes de malta o mediante la suplementación de enzimas durante el proceso. Se evaluó la actividad tipo proteasa utilizando zimogramas con gelatina como sustrato, las dos maltas mostraron un perfil diferente al ser incubadas a diferentes valores de pH. La malta D1 a pH 7.5 muestra 6 bandas con actividad proteolítica entre 50 y 150 kDa, mientras que la malta D3 mostró 4 bandas con actividad proteolítica con diferentes pesos moleculares 100 kDa, 60 kDa, 45 kDa y 30 kDa. Grudkowska et al. (2013) reportan una metaloproteinasa (150 kDa) y una proteinasa aspártica (110 kDa) similares. Las metaloproteinasas son relacionadas con la

calidad y pertenecen a un grupo de proteasas importantes en el proceso cervecero. Estas enzimas de alto peso molecular juegan un rol importante en la hidrólisis de proteínas de almacenamiento, relacionadas con el contenido de KI y FAN. A pH 5.0 ambas maltas (D1 y D3) no mostraron diferencias en los patrones de actividad, además, mostraron dos bandas de actividad de 23 y 35 kDa y sin bandas definidas de actividad a mayor peso molecular (Fig. 2).

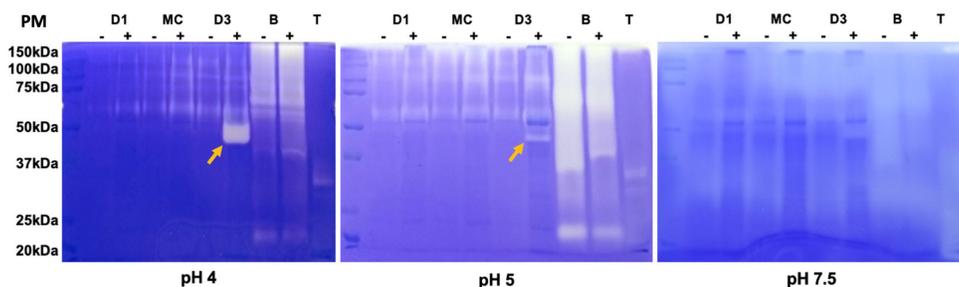
Figura 2. Determinación de la actividad proteolítica en muestras de malta. **D1.** Malta D1. **CM.** Malta comercial. **D3.** Malta D3. **B.** Bromelina de tallo de piña 30µg/µl. **T.** Tripsina de páncreas bovina 20 µg /µl.



El pH óptimo en el proceso de maceración es de 5.0, al no observar diferencias entre las maltas se procedió a la búsqueda de un cofactor u agente que estimulara la actividad enzimática de las proteasas. Koehler y Ho, (1988) purificaron y caracterizaron una cisteinil endoproteasa de la capa de la aleurona inducida durante 96 h con ácido giberélico 1 µM y visualizada mediante zimogramas nativos empleando hemoglobina como sustrato. La enzima purificada correspondía a la EP-A con un peso molecular de 37 kDa. Este tipo de proteasa está relacionada con la calidad de la malta ya que incrementa su expresión durante el proceso de germinación y es la responsable de degradar a las hordeínas (mayoritarias de la malta) (Koehler y Ho, 1990). La inducción de la actividad proteolítica se realizó siguiendo la misma metodología de Koehler y Ho. (1988) y para su visualización fueron empleados zimogramas con gelatina como sustrato. En la malta D3 incubada a pH 4.0 y 5.0 fue detectada una banda muy prominente de actividad proteolítica de 37- 50 kDa (Fig. 5, flecha amarilla), similar a la tiolproteasa EP-A reportada por Koehler y Ho. (1988). Este resultado indica que empleando esta malta dará un nivel óptimo de FAN y perfil de aminoácidos, lo que se traduce a una buena fermentación y

una cerveza con características deseables. Se puede observar que a pH 7.5 la actividad es inhibida en todas las maltas y controles (Fig. 3). Esto indica que las maltas poseen actividad de tipo cisteinil proteasas las cuales son inhibidas a este valor de pH incluso con el uso de inductores.

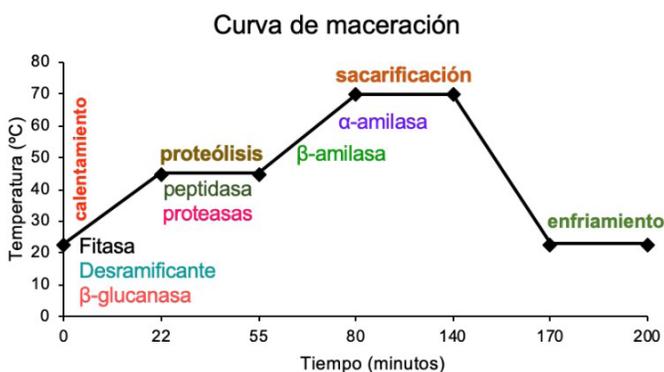
Figura 3. Inducción de la actividad proteolítica en muestras de malta **D1**. Malta D1. **MC**. Malta comercial. **D3**. Malta D3. **B**. Bromelina de tallo de piña 30µg/µl. **T**. Tripsina de páncreas bovina 20 µg /µl. - sin inductor. + con inductor.



3.4 PREPARACIÓN DEL MOSTO

Diferentes grupos de enzimas hidrolíticas participan durante el proceso de maceración y son activadas mediante los cambios de temperatura que ocurren en las diferentes etapas del proceso (Fig. 4).

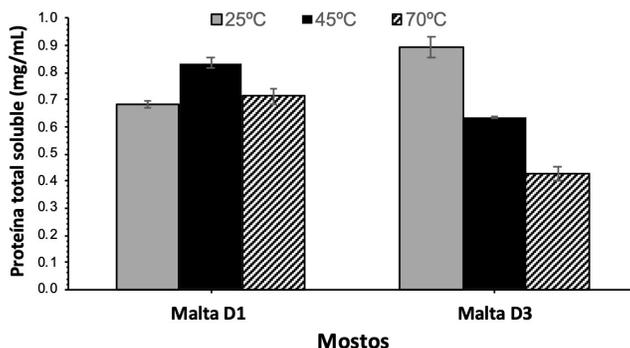
Figura 4. Curva de maceración de los mostos con 100 % malta.



Para relacionar las hidrolasas provenientes de la malta con la calidad del mosto, se prepararon mostos 100 % de cebada malteada (Iimure et al., 2012). La concentración de proteína total soluble fue medida en cada etapa de la maceración (Fig. 5) con el fin de estudiar cambios en el contenido de proteínas presentes durante el proceso. Los resultados muestran que en el mosto D1 no hubo disminución en el contenido de

proteínas durante todo el proceso de maceración en comparación con el mosto D3 que si disminuyó el 50 % de su contenido de proteínas. Steiner et al. (2011) mencionan que en mostos con 100 % de cebada, se pueden encontrar más compuestos proteicos disueltos prevaleciendo incluso en la cerveza. Estos compuestos pueden tener una influencia positiva en importantes características, tales como: cuerpo, sensación en la boca, la estabilidad y formación de la espuma.

Figura 5. Proteína total soluble en el proceso de maceración. Mostos preparados con 100% malta.



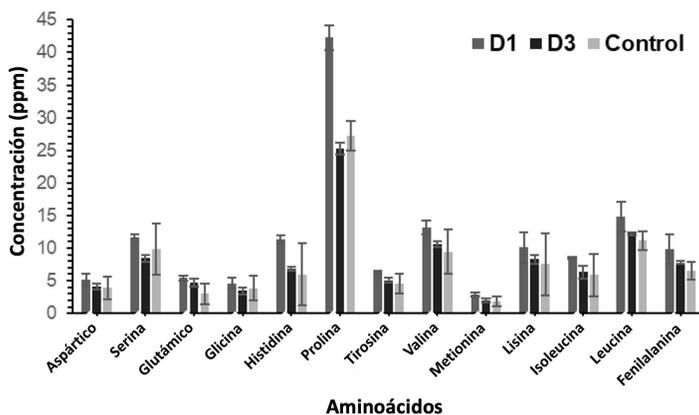
Otro parámetro analizado fue el FA,N importante para el crecimiento de la levadura. El mosto D1 obtuvo un valor más alto 327 mg/L en comparación con el mosto D3 (262 mg/ L), el cual fue similar al valor obtenido con el mosto de malta comercial (269 mg/ L) (Tabla 1). Estos resultados coinciden con las bandas de actividad proteolítica de alto peso molecular encontradas mediante zimogramas en la malta D1. Los valores FAN deben estar en los niveles adecuados para asegurar la disponibilidad de nutrientes nitrogenados a la levadura y no afectar el proceso de fermentación (Briggs et al., 2004). Los niveles bajos de FAN dan una baja propagación de la levadura, un mal desempeño de la fermentación y se generan subproductos no deseados (diacetilo, compuestos de azufre, etc.). Sin embargo, una muy alta concentración de FAN puede provocar reacciones no deseadas a través de la reacción de Maillard que tienden a producir colores altos en la cerveza (Steiner et al., 2011).

Tabla 1. Parámetros de los mostos producidos con diferentes maltas.

Parámetros de análisis	Mostos		
	D1	D3	Malta comercial
Proteína total soluble (mg/ L)	700	400	400
Alfa amino nitrógeno (mg/L)	350	273	269
Viscosidad (cps)	1,72	1,67	1,51
pH	5,9	6,0	5,9

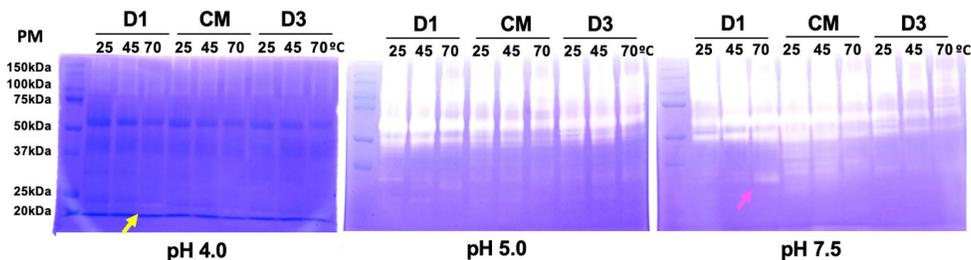
Estos resultados también concuerdan con los valores obtenidos respecto al color: mosto D1 (20.80 ± 0.57), mosto D3 (20.90 ± 0.14) y mosto control (8.4). Guzmán-Ortiz et al. (2018), reportaron resultados similares con mostos preparados con la variedad de cebada Doña Josefa y presenta un color tipo melano (16.26 ± 0.19) y tipo chocolate (27.73 ± 0.79), clasificándolas como cervezas tipo Weissbier y Double IPA, respectivamente. En cuanto al perfil de aminoácidos libres, el mosto D1 mostró mayor concentración con respecto al control y al mosto D3 (Fig. 6). Lingzhen et al. (2016), encontraron que la prolina y el ácido glutámico son importantes constituyentes en la formación de turbidez en la cerveza.

Figura 6. Perfil de aminoácidos de mostos 100 % malta.



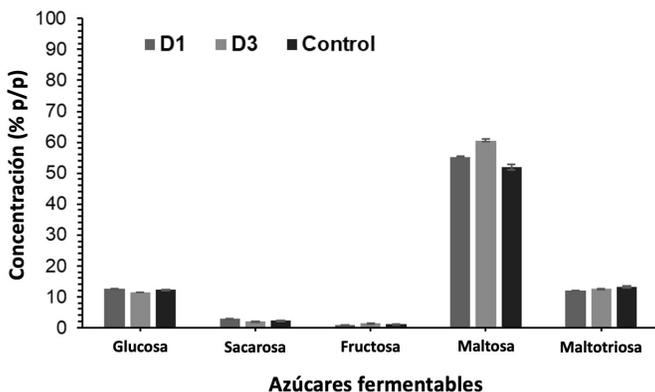
Mediante zimogramas, observamos que las principales diferencias entre la malta D1 respecto a las maltas D3 y la comercial, son bandas de actividad presentes entre 25 y 37 kDa observadas principalmente a pH 5.0 y 7.5 (Fig. 7). Una pequeña banda de actividad de ca. 22 kDa fue observada en la etapa de maceración a 70 °C (pH 4.0), la cual está presente solo en esta malta (flecha amarilla). Otra de ca. 33 kDa (pH 7.0) que es más intensa en la malta D1 (flecha rosa). Estas dos bandas podrían estar relacionadas a los resultados descritos anteriormente.

Figura 7. Actividad proteolítica presente en el proceso de maceración **D1**. Mosto preparado con malta D1. **CM**. Mosto preparado con malta comercial. **D3**. Mosto preparado con malta D3. **25, 45 y 70** representa la temperatura de cada etapa a diferentes valores de pH.



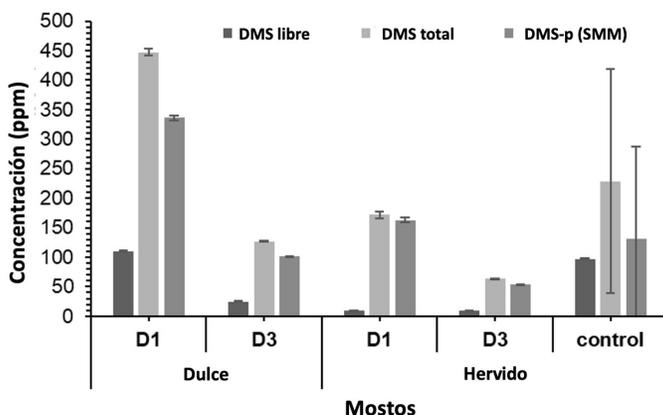
El perfil de azúcares de los dos mostos evaluados está dentro de los parámetros de calidad establecidos por la European Brewery Convention, 1998; donde casi el 60 % es maltosa, seguido de maltotriosa 15-17 %, glucosa 12-15 % y 1.3-1.9 % de fructosa (Fig. 8). Estos resultados indican que las condiciones de cultivo no afectan de manera significativa el perfil de azúcares fermentables, ya que los mostos preparados con esta variedad, producen el perfil óptimo para una buena fermentación y poseen niveles similares al mosto preparado con malta comercial. Sin embargo, el mosto D3 presentó niveles ligeramente más altos de fructosa, maltosa y maltotriosa.

Figura 8. Determinación de azúcares fermentables en los mostos.



Finalmente, evaluamos el DMS libre, total y el s-metilmencionina (SMM) precursor del DMS. El DMS es un importante contribuyente al sabor de la cerveza tipo lager, es beneficioso para el sabor y aroma en concentraciones moderadas entre 30 y 100 ppb pero a concentraciones superiores a su umbral aporta notas desagradables al aroma de la cerveza tal como aroma a pan de elote (Ferreira y Guido, 2018). Encontramos que el mosto D3 dulce cumple con los parámetros de calidad para este compuesto, detectándose niveles bajos (127 ppb mosto sin ebullición y 63 ppb con ebullición) y cae dentro del rango que no son percibidos. Por el contrario, el mosto D1 presentó niveles moderados (172 ppb) de DMS solo en los mostos después de la etapa de ebullición. Los mostos hervidos preparados con malta D1 y D3 presentaron niveles menores de DMS en comparación con el mosto de la malta comercial (229ppb). Por lo tanto, la malta D3 puede ser utilizada para preparar mostos dulces reduciendo el tiempo de maceración, mientras que, utilizando la malta D1 requerirá de la etapa de ebullición después de la maceración para disminuir los niveles de DMS (Fig. 10).

Figura 9. Determinación de Dimetil sulfuro en mostos 100 % malta.



No se había demostrado como impacta la aplicación de azufre y nitrógeno en los procesos de fertilización de la cebada, hasta que el grupo de Zhao et al. (2006) comprobaron que al aplicar concentraciones altas de azufre y nitrógeno puede afectar la concentración de DMS precursor en la cebada malteada, la calidad del malteo, el tamaño del grano y a su vez el sabor de la cerveza. Ellos recomiendan una adecuada concentración para que no se vea afectados los parámetros de calidad de la cebada. Estos resultados se relacionan con lo observado con el mosto D1, donde nuevamente las condiciones de cultivo impactan en las características de la cebada malteada, lo que significa que la cebada D1 en su condición de cultivo está más expuesta a suelos ricos en azufre y nitrógeno, de ahí sus niveles altos de DMS precursor y FAN.

4 CONCLUSIONES

La producción de enzimas hidrolíticas depende principalmente de la variedad de cebada, condiciones de cultivo y condiciones ambientales. La actividad enzimática es activada durante el proceso de malteado de la cebada y maceración del mosto, y son pieza clave para la producción de cerveza. De estas actividades dependerán la cantidad de aminoácidos y azúcares disponibles para la levadura durante la fermentación. La malta D1 mostro una proteasa de 150 kDa similar a una metaloproteína reportada relacionada con el KI y FAN. Presenta niveles superiores de FAN y una mayor cantidad del aminoácido prolina relacionado con la presencia de turbidez en la cerveza. Este resultado se relaciona también con la presencia de mayor actividad proteolítica alcalina. La malta D3 muestra mayor actividad proteolítica ácida que se relaciona con un óptimo nivel de FAN y perfil de aminoácidos. Presenta una banda tipo tiolproteasa EP-A muy prominente ca. 37-40 kDa inducida con ácido giberélico, principal enzima de digestión de las hordeínas. Utilizando

la malta D3 para la preparación del mosto, se puede reducir el proceso de maceración eliminando el paso de ebullición, lo cual es benéfico para la industria cervecera.

Los resultados muestran que ambas maltas presentan buenas características para su uso en la producción de cerveza, teniendo mejores características la malta D3. Ambas dan un perfil óptimo de azúcares fermentables y de aminoácidos.

En este estudio pudimos observar que la malta preparada a partir de la misma variedad de cebada puede tener diferentes características de calidad según las condiciones de cultivo a la cual estuvo sometida. Fueron observadas importantes diferencias que se relacionan con el proceso cervecero o con la cerveza final. Esto permitirá establecer mejores criterios de selección de maltas, manejo y programación de preparación de mostos, reducción en los procesos de maceración y asociar la presencia de enzimas con el desempeño de la fermentación o de la cerveza final.

5 AGRADECIMIENTOS

Agradecemos Al Dr. Víctor E. Aguirre (Facultad de Agronomía-UANL) por su colaboración con material para la realización de los zimogramas. Al Dr. Jorge Hugo García García (IB-FCB-UANL) por su colaboración en la revisión del manuscrito.

6 CONTRIBUCIONES DEL AUTOR

CBLA y JGHG fueron designadas al proyecto y realización de la parte experimental del trabajo, BPA director del proyecto. CBLA escribió el manuscrito con el apoyo de JGHG y supervisión de BPA. JHGG y CIHV apoyaron con la revisión de los resultados. Todos los autores proporcionaron comentarios críticos y ayudaron a dar forma al proyecto y al artículo. EPO y LCDB dieron su aprobación a la versión final del documento.

7 CONFLICTO DE INTERESES

Todos los autores declaran no tener intereses financieros en competencia.

REFERENCIAS

American Society of Brewing Chemists., 1996. ASBC Methods of Analysis, 8th revised edition. St Paul, MN, U.S.A.

Briggs, D.E., Boulton, C.A., Brookes, P.A., Stevens, R., 2004. Brewing: science and practice. Publishing W, editor: CRC Press, Cambridge UK.

European Brewery Convention, 1998. Analytica-EBC. Verlag Hans Carl Getranke Fachverlag, Nurnberg, Germany.

- Fang, Y., Zhang, X., Xue, D., 2019. Genetic Analysis and Molecular Breeding Applications of Malting Quality QTLs in Barley. *Frontiers in Genetics* 10, 352. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00352>.
- Fernández, Z., October 31, 2013. Research & production trends in Mexico. In: AMBA.
- Ferreira, I.M., Guido, L.F., 2018. Impact of Wort Amino Acids on Beer Flavour: A Review. *Fermentation* 4, 23, 2-13. <https://doi.org/10.3390/fermentation4020023>.
- Grudkowska, M., Lisik, P., Rybka, K., 2013. Two-dimensional zymography in detection of proteolytic enzymes in wheat leaves. *Acta Physiologiae Plantarum* 35, 3477-3482. <https://doi.org/10.1007/s11738-013-1371-1>.
- Guo, B., Luan, H., Lin, S., Ly, C., Zhang, X., Xu, R., 2016. Comparative proteomics analysis of two barley cultivars (*Hordeum vulgare L.*) with contrasting grain protein content. *Frontiers in Plant Science* 7, 542. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00542>.
- Guzmán-Ortiz, F.A., Soto-Carrasquel, A., López-Perea, P., Román-Gutiérrez, AD., 2018. Valuation and use of a new variety of barley for brewing craft beer. *Ingeniería Agrícola y Biosistemas* 11, 81-95. <http://dx.doi.org/10.5154/r.inagbi.2018.01.001>.
- Herrera-Gamboa, J.G., López-Alvarado, C. B., Pérez-Ortega, E., Damas-Buenrostro, L. C., Cabada-Amaya, J. C., Pereyra-Alfárez, B., 2018. Proteomic analysis of two malting barleys (*Hordeum vulgare L.*) and their impact on wort quality. *Journal of Cereal Science* 80, 150-157. ISSN 0733-5210, <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.02.004>
- limure, T., Nankaku, N., Kihara, M., Yamada, S., Sato, K., 2012. Proteome analysis of the wort boiling process. *Food Research International* 45, 262-271. ISSN 0963-9969, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.10.033>.
- Jones, B.L., 2001. Interactions of malt and barley (*Hordeum vulgare L.*) endoproteinases with their endogenous inhibitors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, 5975-81. <https://doi.org/10.1021/jf010611q>.
- Koehler, S., Ho, T.H.D., 1988. Purification and characterization of gibberellic acid-induced cysteine endoproteases in barley aleurone layers. *Plant Physiology* 87, 95-103.
- Koehler, S., Ho, T.H.D., 1990. A major gibberellic acid-induced barley aleurone cysteine proteinase which digests hordein. *Plant Physiology* 94, 251-258.
- Lingzhen, Y., Yuqing, H., Mei, L., Chengdao, L., Guoping, Z., 2016. The chemical components in malt associated with haze formation in beer. *Journal of the Institute of Brewing* 122, 524-529. <https://doi.org/10.1002/jib.353>.
- López-Alvarado, C.B., Herrera-Gamboa, J.G., Damas-Buenrostro, L.C., Pérez-Ortega, E., Pereyra-Alfárez, B., 2016. Evaluation of Protease Activity from Two Brewing Malts. *International Biotechnology Color Journal* 4, 23-29.
- Oliveira, H.M., Pinheiro, A.Q., Fonseca, A.J.M., Cabrita, A.R.J., Maia, M.R.G., 2019. Flexible and expeditious assay for quantitative monitoring of alpha-amylase and amyloglucosidase activities, *MethodsX* 6, 246-258. ISSN 2215-0161, <https://doi.org/10.1016/j.mex.2019.01.007>.
- Ouda, S.A., Gaballah, M.S., 2007. Effect of Using Stabilizing Agents on Increasing Yield and Water Use Efficiency in Barley Grown under Water Stress. *Aust. Journal of Basic and Applied Sciences* 1, 571-577.

Schmitt, M.R., Marinac, L., 2008. Beta-amylase degradation by serine endoproteinases from green barley malt. *Journal of Cereal Science* 47, 480-488. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2007.06.002>.

Secades, P., Guijarro, J.A., 1999. Purification and characterization of an extracellular protease from the fish pathogen *Yersinia ruckeri* and effect of culture conditions on production. *Applied and Environmental Microbiology* 65, 3969-3975.

Steiner, E., Auer, A., Becker, T., Gastl, M., 2011. Comparison of beer quality attributes between beers brewed with 100% barley malt and 100% barley raw material. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 92, 803-813. <https://doi:10.1002/jsfa.4651>.

Wang, W., Vinocur, B. Shoseyov, O., Altman, A., 2004. Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response. *Trends in Plant Science* 9, 244-52. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2004.03.006>.

Wrobel, R., Jones, B.L., 1992. Electrophoretic study of substrate and pH dependence of endoproteolytic enzymes in green malt. *Journal of the Institute of Brewing* 98, 471-478. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.1992.tb01132.x>.

Zhao, F.J., Fortune, S., Barbosa, V.L., McGrath, S.P., Stobart, R., Bilsborrow, P.E., Booth, E.J., Brown, A., Robson, P., 2006. Effects of sulphur on yield and malting quality of barley. *Journal of Cereal Science* 43, 369-377. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2005.12.003>.

SOBRE O ORGANIZADOR

Dr. Juan Carlos Cancino Díaz - Egresado de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas (ENCB) del Instituto Politécnico Nacional (IPN), México, con la licenciatura en Ingeniero Bioquímico. Estudios de posgrado en la misma institución con la especialidad de maestría en Bioquímica y doctorado en Inmunología. Actualmente es profesor e investigador de la ENCB-IPN impartiendo la cátedra de Microbiología veterinaria para los Químicos Bacteriólogos Parasitólogos. El área de investigación es sobre el estudio de la biología de *Staphylococcus epidermidis*, con una alta producción de artículos científicos en revistas científicas de prestigio. Ha desempeñado como director de tesis de licenciatura, maestría y doctorado. Tiene una patente otorgada por el instituto mexicano de la propiedad intelectual y cuatro en curso de aprobación. Es miembro del sistema nacional de investigadores de México nivel II. Es editor de un libro sobre *Staphylococcus epidermidis* que está en curso de publicación y cinco capítulos de libro sobre su área de investigación.

ÍNDICE REMISSIVO

A

Aguas residuais 196, 200, 204, 206
Anacyclus 149, 150, 152, 153, 154, 155, 158, 160, 161, 162, 163
Aquatic fitness 68
Atenção visual 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33
Atención sanitaria 15, 21, 22, 25

B

Bacterias halotolerantes 138, 146
Bioensayos 180, 195, 196, 197, 198
Biomechanics 68, 76, 77

C

Calidad de la malta 100, 101, 105, 107
Canabidiol 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 87, 88
Cebada malteada 99, 100, 101, 102, 103, 105, 108, 112
Celulasas 138, 139, 140, 141, 146
Ciatalgia 36, 37, 38, 41, 42, 43
Cobre 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171
Control biológico 174
Criança 4, 27, 31, 32

D

Deficiência auditiva 27
Doença de Huntington 48, 49, 50, 51, 54, 56, 57, 58, 59, 60
Doenças Crônicas 6, 7, 12, 78, 79, 80, 82, 83, 87

E

Educação para a morte 1, 3, 7, 11, 13
Efluentes urbanos 195, 196
Enfermagem em Reabilitação 49
Enfermedad de Chagas 90, 91, 94, 97, 98
Entomopatógenos 174, 182
Exercício Terapêutico 49

F

Fitoquímica 149, 161, 163

Fitoterapia 79

Fotossíntese 164, 165, 166, 168, 170

G

Gastritis 149, 150, 151, 152, 162, 163

H

Hidrolasas 100, 102, 105, 108, 142, 146

I

Insecticida 174, 178, 181, 182, 183, 184

Insecto-plaga 174

In-water forces 68, 69, 72, 74, 75

Itinerarios terapéuticos 15, 22, 25

L

Lagos 140, 186, 187, 188, 190, 191

Leguminous 116, 133

Lepidópteros 174, 182

M

Maconha Terapêutica 79, 82

Masaje neuroreflejo 36, 38, 46

Microalga 164, 166, 167, 170, 172

Migración internacional 15

Morbilidad sentida 15, 20, 22

Mujeres en edad fértil 90, 98

N

Nodule 116, 119, 120, 123, 124, 125, 126, 129, 131

P

Patagonia 186, 187, 188, 190, 191

Percepción remota 186, 187, 191

Petroleum hydrocarbons 116, 117, 131

Phenological stage 116, 117, 118, 119, 120, 123, 124, 125, 128, 131, 132

Plancton 186, 187

Profissionais da saúde 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 10, 11, 12, 13

R

Reabilitação 48, 49, 50, 51, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 67

Revisão de literatura 1

S

Sacrolumbalgia 36, 37, 42, 43

Scenedesmus 164, 165, 166, 167, 168, 170, 171, 172, 173

Surdez 27, 28, 29, 31, 32

T

Toxicidad 151, 185, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206

Trypanosoma cruzi 90, 91, 98

U

Úlcera 149, 150, 151, 158, 162

X

Xilanasas 138, 139, 140, 141, 146

Y

Young adults 68, 75

Z

Zimogramas 100, 101, 102, 103, 106, 107, 109, 110, 113