



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE HIDALGO**

INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

ÁREA ACADÉMICA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL Y ALIMENTOS

**“INFLUENCIA DEL PROCESO DE GERMINACIÓN
SOBRE LOS CAMBIOS MICROESTRUCTURALES
DEL ALMIDÓN DE CEBADA”**

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS

PRESENTA

Q. A. LAURA JACQUELINE GUTIÉRREZ OSNAYA

ASESORES

DR. JUAN PABLO HERNÁNDEZ URIBE

DRA. FABIOLA ARACELI GUZMÁN ORTIZ

DRA. ALMA DELIA ROMÁN GUTIÉRREZ

DRA. HEIDI MARÍA PALMA RODRÍGUEZ



ENERO 2019



COORDINACION DE INVESTIGACION Y POSGRADO DEL ICAP

Actas de la reunión del Comité de Tesis de Maestría en Ciencia de los Alimentos
Apertura:

La reunión ordinaria para evaluar los avances de la tesis intitulada: "Influencia del proceso de germinación sobre los cambios microestructurales del almidón de cebada", que desarrolla la estudiante Q. A. Laura Jacqueline Gutiérrez Osnaya

Asistentes:

Dr. Juan Pablo Hernández Uribe

Dra. Fabiola Araceli Guzmán Ortiz

Dra. Alma Delia Román Gutiérrez

Dra. Heidi María Palma Rodríguez

Observaciones:

A. Revisión de Trabajo de Tesis

El comité revisó con antelación el trabajo de tesis en extenso propuesto por la estudiante, comunicando a la estudiante, Q. A. Laura Jacqueline Gutiérrez Osnaya, oportunamente las correcciones, adiciones y/o modificaciones que debería considerar para mejorar su trabajo y poder continuar con el proceso de obtención de grado. La estudiante atendió de forma conveniente las sugerencias del comité.

B. Acuerdos

En esta fecha, se comunica atentamente que el comité conformado por los profesores firmantes, otorgamos nuestra autorización para que la estudiante imprima su trabajo final de tesis, y continúe con los trámites necesarios para la obtención del grado de maestría respectivo.

ATENTAMENTE

"AMOR, ORDEN Y PROGRESO"

Tulancingo de Bravo, Hidalgo a 17 de enero de 2019

Dr. Juan Pablo Hernández Uribe

Dra. Fabiola Araceli Guzmán Ortiz

Dra. Alma Delia Román Gutiérrez

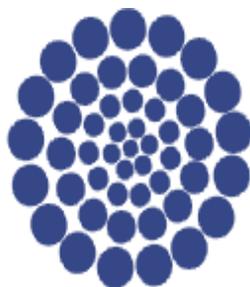
Dra. Heidi María Palma Rodríguez





Parte de este trabajo fue presentado en el foro científico:

- ✓ XXXIX Encuentro Nacional de la Academia Mexicana de Investigación y Docencia en Ingeniería Química A.C. (AMIDIQ)



CONACYT

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología

Este trabajo de investigación se realizó con el apoyo del proyecto de cátedras CONACyT 1232 de “**Nuevos productos innovadores que impacten a la salud del consumidor y a la industria alimentaria**” y de Becas CONACyT Nacionales: BECAS NACIONALES 2016 SEGUNDO PERIODO, con Núm. de CVU 781501.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar agradezco a Dios por darme la vida, por ser mi guía y acompañarme en todo momento, por haberme permitido culminar mi carrera con éxito. Le agradezco por darme a mi familia, a mis amigos y a todas las personas que han sido mi soporte, por alentarme y por su compañía durante todo el periodo de estudio.

A mis padres

Gracias por darme su apoyo y su amor incondicional.

A mi familia

A mis niños por darme su cariño y paciencia. Le agradezco a mi esposo por su apoyo incondicional en todo momento y sus buenos consejos.

Dra. Alma Delia Román Gutiérrez, Dra. Fabiola Araceli Guzmán Ortiz Dra. Heidi María Palma Rodríguez, Dr. Jun Pablo Hernández Uribe

Gracias por haber confiado en mí, por su paciencia, por tomarse el tiempo para revisar esta tesis. Les agradezco por la dirección de este trabajo y su infinito apoyo.

Agradezco a la institución y profesores de Icap por brindarme la oportunidad de adquirir sus conocimientos.

INDICE

INDICE.....	6
INDICE DE FIGURAS	9
INDICE DE TABLAS	10
I. RESUMEN	1
II. ANTECEDENTES	2
2.1. Semillas.....	2
2.2. Cebada.....	2
2.3. Almidón	5
2.3.1. Amilosa.....	5
2.3.2. Amilopectina	7
2.3.3. Gránulo de almidón.....	9
2.3.4. Propiedades fisicoquímicas del gránulo de almidón.....	11
2.3.4.1. Tamaño y composición.....	11
2.3.4.2. Cristalinidad.....	13
2.3.4.3. Birrefringencia	14
2.3.4.4. Transición vítrea	15
2.3.4.5. Capacidad de hinchamiento y solubilidad de los gránulos de almidón	15
2.3.4.6. Propiedades reológicas y térmicas.....	16
2.3.5. Propiedades funcionales del almidón	18
2.3.5.1. Gelatinización.....	18
2.3.5.2. Retrogradación.....	20
2.3.6. Modificación del almidón.....	20
2.4. Germinación	21
2.4.1. Catabolismo de los compuestos de reserva.....	24
2.4.1.1. Lípidos	24
2.4.1.2. Proteínas	25
2.4.2. Cambios en el grano durante la germinación	25
2.4.2.1. Hidrólisis de los carbohidratos	26
III. JUSTIFICACIÓN.....	29
IV. OBJETIVOS	30

4.1.	Objetivo general	30
4.2.	Objetivos específicos.....	30
V.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	32
5.1.	Germinación	32
5.2.	Aislamiento del almidón.....	32
5.3.	Microscopía electrónica de barrido	33
5.4.	Microscopía de luz polarizada	33
5.5.	Análisis de imagen.....	33
5.6.	Espectro infrarrojo	33
5.7.	Calorimetría diferencial de barrido	34
5.8.	Analizador rápido de viscosidad.....	34
5.9.	Determinación de amilosa aparente.....	34
5.10.	Difracción de rayos X y cristalinidad relativa	35
5.11.	Propiedades funcionales	36
5.11.1.	Extracto enzimático.....	36
5.11.2.	Actividad de proteasa.....	36
5.11.3.	Actividad de amilasa.....	36
5.11.4.	Capacidad de absorción de agua y aceite	36
5.12.	Análisis estadístico de datos	37
VI.	RESULTADOS	38
6.1.	Microscopia electrónica de barrido	38
6.2.	Microscopía de luz polarizada.....	42
6.3.	Análisis de imagen.....	46
6.4.	Espectro infrarrojo	50
6.5.	Análisis rápido de viscosidad.....	53
6.6.	Propiedades térmicas.....	56
6.7.	Amilosa aparente	58
6.8.	Cristalinidad.....	59
6.9.	Propiedades funcionales	63
6.9.1.	Actividad de amilasa y proteasa.....	63
6.9.2.	Absorción de agua y aceite	66
6.9.3.	Capacidad emulsionante y de espuma.....	69

VII. CONCLUSIONES	72
VIII. REFERENCIAS	73
IX. ANEXOS	92

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Anatomía de un grano de cebada	3
Figura 2. . Estructura del grano de cebada	4
Figura 3. Estructura de la amilosa.....	6
Figura 4. Estructura helicoidal de la amilosa	6
Figura 5. Estructura de la amilopectina.....	7
Figura 6. Representación esquemática de una sección de amilopectina	8
Figura 7. Representación de la estructura del gránulo de almidón.....	10
Figura 8. Metabolismo de los lípidos durante la germinación	24
Figura 9. Diagrama de la germinación en granos de cebada.....	27
Figura 10. Morfología de los gránulos de almidón de la cebada Esmeralda sin germinar y germinada.	38
Figura 11. Morfología de los gránulos de almidón de la cebada Perla sin germinar y germinada. ..	39
Figura 12. Cruz de malta de los gránulos de almidón de cebada Esmeralda.	43
Figura 13. Cruz de malata de los gránulos de almidón de cebada Perla.	44
Figura 14. Gránulos de almidón de cebada Esmeralda, observados con luz normal.	45
Figura 15. Gránulos de almidón de cebada Perla, observados con luz normal.	46
Figura 16. Espectros infrarrojos de cebada Esmeralda germinada y sin germinar.....	52
Figura 17. Espectros infrarrojos de cebada Perla germinada y sin germinar.	53
Figura 18. Patrones de difracción de rayos X de cebada germinada durante 8 días.	60
Figura 19. Patrones de difracción de rayos X para diferentes almidones.	61
Figura 20. Micrografías electrónicas de barrido de arroz. a. arroz nativo bajo contenido de amilosa; b. arroz nativo normal c. arroz nativo bajo contenido de amilosa a 30 °C (120 h); d. arroz nativo bajo contenido de amilosa a 35 °C (120 h); e. arroz nativo normal a 30 °C (120 h) and f. arroz nativo normal a 35 °C (120 h).....	92
Figura 21. Micrografías electrónicas de barrido de harina de semillas Adlay a diferentes etapas de la germinación.....	93
Figura 22. Micrografías electrónicas de barrido de almidones nativos y germinados de arroz integral, avena, sorgo y mijo. a. arroz nativo; b. arroz germinado 24h; c. arroz germinado 48h; d. avena nativa; e. avena germinada 24h; f. avena germinada 48h; g. sorgo nativo; h. sorgo germinado 24h; i. sorgo germinado 48h; j. mijo nativo; k. mijo germinado 24h; l. mijo germinado 48h.	94
Figura 23. Fotomicrografías electrónicas de barrido de harina y almidón de arroz y arroz germinado. A. harina de arroz integral; B. almidón aislado de arroz.....	95

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química media de la materia seca de la cebada.....	4
Tabla 2. Características de los gránulos de almidón de diferentes fuentes botánicas	12
Tabla 3. Curva estándar de amilosa	35
Tabla 4. Análisis de imagen sobre el efecto de un proceso de germinación en gránulos de almidón de Cebada germinada y sin germinar.	47
Tabla 5. Efecto de un proceso de germinación sobre la viscosidad de gránulos de almidón de cebada germinada y sin germinar.	54
Tabla 6. Efecto de un proceso de germinación sobre las propiedades térmicas de gránulos de almidón de cebada germinada y sin germinar.	57
Tabla 7. Efecto de un proceso de germinación sobre el contenido de amilosa aparente en los gránulos de almidón germinados y sin germinar (%).	59
Tabla 8. Resultado de la germinación sobre la cristalinidad relativa de los gránulos de almidón germinados y sin germinar (%).	62
Tabla 9. Efecto de un proceso de germinación sobre la actividad de amilasa y proteasa en harina de cebada germinada y sin germinar (%).	63
Tabla 10. Efecto de un proceso de germinación sobre la capacidad de absorción de agua y aceite de harinas de cebada germinada y sin germinar (%).	67
Tabla 11. Efecto de un proceso de germinación sobre la capacidad de emulsión y espuma de harina de cebada germinada y sin germinar.	70

I. RESUMEN

En la actualidad los granos de los cereales son consumidos en grandes cantidades por su alto contenido en carbohidratos, proteínas, triglicéridos, fibra, y minerales, además de su uso variado en la industria alimentaria. La cebada es el quinto cereal mayormente cultivado ya que es principalmente utilizado en la industria maltera, panadera y de consumo animal. La cebada provee compuestos indispensables como lípidos, proteínas y carbohidratos, principalmente el almidón. El cual es un polímero semicristalino de la glucosa, consta de dos estructuras primarias (la amilosa y amilopectina) que le confieren sus propiedades fisicoquímicas y funcionales, de estas depende su uso en la industria. Es por ello que en la actualidad se ha optado por modificar al almidón, estas modificaciones pueden ser físicas, químicas, enzimáticas, microbiológicas o la combinación de estas para mejorar su funcionalidad. El presente trabajo de investigación fue evaluar los cambios microestructurales del gránulo de almidón de dos variedades de cebada sometidas a un proceso de germinación para analizar sus propiedades funcionales y fisicoquímicas. Se utilizó variedad Esmeralda y Perla, se germinaron por 8 días a 26 °C. Las muestras se secaron a 40 °C/24 horas. Se aisló almidón de los granos germinados de 0, 2, 4, 6 y 8 días. Se analizó la morfología del almidón a través de microscopia electrónica de barrido, microscopia de luz polarizada y análisis de imagen con el software ImageJ. Se utilizó espectroscopia de infrarrojo para analizar los cambios del almidón. Así como la cuantificación de amilosa aparente para saber la composición aproximada del almidón y Rayos X para determinar el grado de cristalinidad. Por otro lado, se estudiaron las propiedades térmicas y de viscosidad mediante calorimetría diferencial de barrido y análisis rápido de viscosidad. Las propiedades funcionales y actividad enzimática fueron evaluadas en las harinas de los germinados. Los grupos funcionales no mostraron cambio con la germinación, la intensidad de las bandas en la región 1047/1022 cm^{-1} indica una ligera disminución en el grado de cristalinidad. Las propiedades de viscosidad y térmicas se ven favorecidas positivamente con respecto al tiempo. Esmeralda mostró mayor actividad de amilasa en día 6 y Perla en el día 5. La actividad de proteasa fue mayor en el día 7 para ambas variedades. El porcentaje de absorción de agua y aceite se incrementa conforme pasa la germinación hasta el día 5. La germinación mejora las propiedades fisicoquímicas y funcionales del almidón de cebada.

II. ANTECEDENTES

2.1. Semillas

Las semillas son las unidades de dispersión y reproducción por excelencia en las plantas. Son la mayor parte de las especies de interés agrícola, están constituidas por un embrión y por compuestos de reserva rodeados ambos por las cubiertas seminales. No obstante, esta estructura general varía entre las diferentes especies principalmente en relación con el tipo y proporción de los compuestos de reserva y a las características de las cubiertas seminales (Pita y Pérez, 1998).

Los principales compuestos de reserva que se acumulan en las semillas son carbohidratos, triacilgliceridos (lípidos neutros) y proteínas (una reserva menor de fitato), que son sintetizados durante el desarrollo y depositados en los tejidos de almacenamiento (Bewley, 2000). Los cereales se encuentran entre los ejemplos más conocidos y estudiados de las semillas que almacenan carbohidratos, principalmente almidón. Siendo el endospermo el sitio de mayor almacenamiento de las reservas (Herrera y col., 2006).

2.2. Cebada

La cebada (*Hordeum vulgare*) pertenece a la familia de las gramíneas, es una planta monocotiledónea anual (Figura 1). Generalmente la cebada tiene seis carreras de granos en su espiga, pero existen variedades que sólo tienen dos (Colín y col., 2007). Crece mejor en los climas frescos y moderadamente secos. Requiere poca acumulación de calor para madurar, puede sembrarse a diferentes altitudes y zonas geográficas; está adaptada a muchas condiciones ambientales (SAGARPA, 2016).

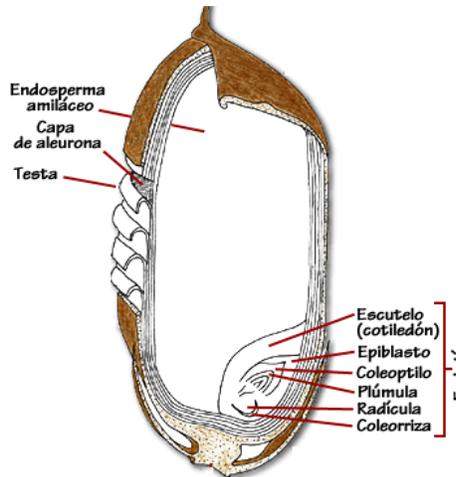


Figura 1. Anatomía de un grano de cebada
(Curtis, 2013)

El grano de cebada es de forma ahusada, más grueso en el centro y disminuyendo hacia los extremos. La cáscara (en los tipos vestidos) protege el grano contra los depredadores y es de utilidad en los procesos de malteado y cervecería; representa un 13% del peso del grano, oscilando de acuerdo al tipo, variedad del grano y latitud de plantación. El embrión se halla situado en la parte dorsal del grano, su vaina radicular se encuentra próxima al micrópilo, para que pueda atravesarlo cuando inicie la germinación. El tallo embrionario apunta hacia el extremo distal del grano, separando el embrión del depósito de nutrientes o endospermo por una estructura a modo de escudo denominada escutelo. El endospermo está constituido en su mayor parte por células de gran tamaño, desvitalizadas, provistas de gránulos de almidón grandes y pequeños. Los gránulos de almidón se encuentran recubiertos de proteína y algo de grasa. Las paredes celulares delgadas contienen hemicelulosa y gomas (glucanos). En la periferia del endospermo se encuentra una capa constituida por células de tamaño pequeño ricas en proteína y exentas de los gránulos de almidón, llamada aleurona. Esta capa tiene un grosor de tres células y no alcanza al escutelo, en su lugar se sitúa una capa de células aplanadas y vacías (Figura. 2) (Van der Heden, 2015).

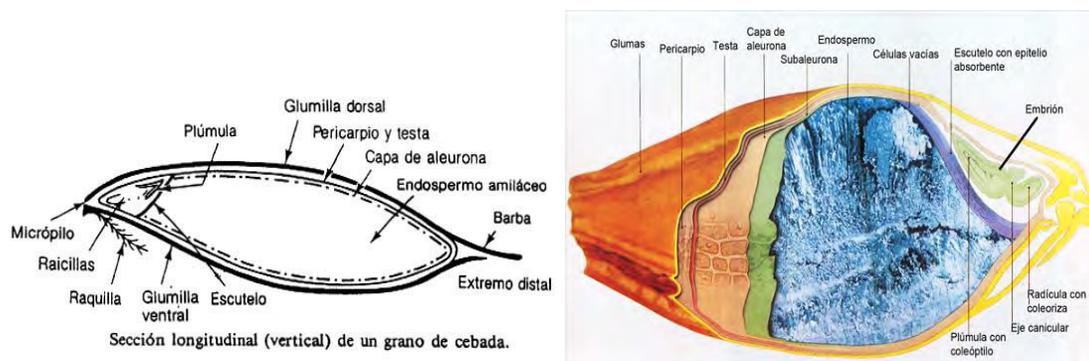


Figura 2. . Estructura del grano de cebada
(Van der Heden, 2015)

La cebada es una de las semillas de gran utilidad industrial, en la alimentación provee compuestos indispensables como carbohidratos (principalmente el almidón), lípidos, proteínas (Tabla 1).

Tabla 1. Composición química media de la materia seca de la cebada

Componentes	Porcentajes (%)
Carbohidratos	81.1
Proteína	8.4
Fibra	6.1
Lípidos	2.2
Cenizas	2.2

(López y col., 2007)

La cebada es utilizada principalmente en la industria maltera y panadera por su alto contenido de almidón (Callejo, 2002; SAGARPA, 2016).

2.3. Almidón

El almidón es un polímero semicristalino de la glucosa, consta de dos estructuras primarias, la amilosa, que es un polímero lineal con uniones α -D-(1-4), y la amilopectina, que es un polímero ramificado con uniones α -D-(1-4) y α -D-(1-6). De estos dos polímeros el principal constituyente del almidón es la amilopectina, estando la fracción exacta determinada por el origen botánico (Sajilata, 2006).

La proporción de estos dos polímeros varía según la fuente botánica y su organización física dentro de la estructura granular, confiriéndole propiedades fisicoquímicas y funcionales únicas al almidón (Tester y Karkalas, 2004).

Es la sustancia más importante que existe desde el punto de vista de la alimentación humana por su volumen de consumo, disponibilidad, precio y disposición; así mismo aporta las calorías necesarias al consumidor debido a que es hidrolizado durante su consumo, liberando las moléculas de glucosa que nuestro cuerpo utiliza para obtener energía (Guan y Keeling, 1998).

Como alimento, el almidón es el polisacárido digerible más abundante e importante. Los almidones en los alimentos se derivan comúnmente de granos o semillas (trigo, maíz, arroz y cebada), tubérculos (papa) y raíces (yuca). El almidón proporciona el 70 - 80% de las calorías consumidas por los seres humanos. Funciona como un agente estructural debido a las modificaciones introducidas durante su fabricación. Se utiliza en la industria alimentaria principalmente como un modificador de textura, viscosidad, adhesión, retención de humedad, formación de gel y películas, estas características están asociadas al contenido de amilosa y amilopectina en el gránulo de almidón (Waterschoot y col., 2015).

2.3.1. Amilosa

Es un polímero lineal y largo, formado por D-glucopiranosas que se encuentran unidas por enlaces α -(1-4) que representan un 99% de su estructura con la presencia de ciertas ramificaciones con enlaces α -(1-6). Estas ramificaciones se encuentran de manera espaciada lo que permite observar su comportamiento lineal (Mua y Jackson, 1997; Buléon y col., 1998;

Biliaderis, 1998). La amilosa tiene un grado de polimerización de 324-4920 con alrededor de 9 a 20 puntos de ramificación equivalente a 3-11 cadenas por molécula. Cada cadena contiene aproximadamente 200-700 residuos de glucosa (Figura 3) (Tester y Karkalas, 2004).

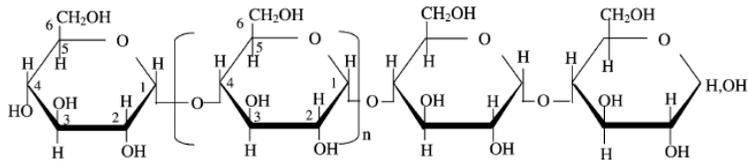


Figura 3. Estructura de la amilosa
(Tester y Karkalas, 2004)

La naturaleza lineal, flexible y de gran longitud de la cadena de amilosa, le confiere la capacidad de enrollarse formando una estructura helicoidal (Figura 4) con 6 unidades de glucosa por giro, dentro de la hélice se proporciona un entorno hidrofóbico, con la capacidad de formar complejos con el yodo, alcoholes o ácidos orgánicos (Morrison, 1995) (Tang y col., 2002).

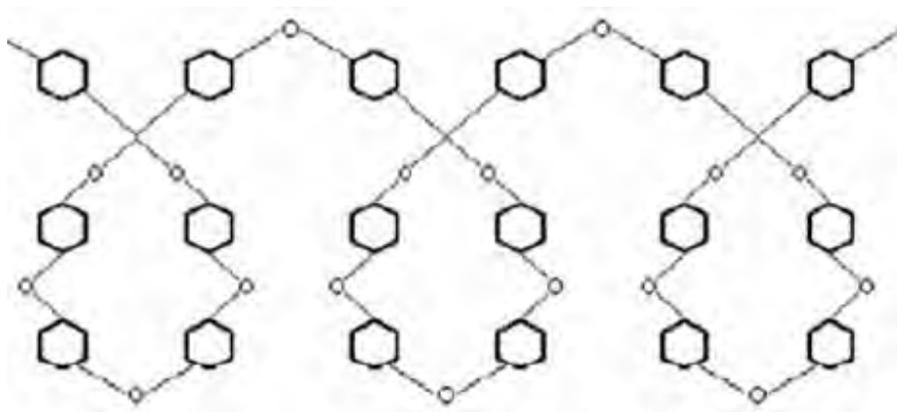


Figura 4. Estructura helicoidal de la amilosa
(Murray y col., 2000)

Los investigadores han destacado el papel de la amilosa en la resistencia inicial de los gránulos al hinchamiento y la solubilidad, la capacidad de las moléculas de amilosa de formar complejos lipídicos lo que evita su lixiviación y, en consecuencia, la capacidad de hinchamiento (Singh y col., 2003). La amilosa puede formar películas excelentes debido a que es anhidra, que son características importantes para aplicaciones industriales. Las películas formadas por amilosa son fuertes, incoloras, inodoras e insípidas (Campos y col., 2011). Sang y col. (2008), reportaron que el contenido de amilosa afecta positivamente la gelatinización y retrogradación del almidón, la viscosidad de la pasta, la gelificación y la digestibilidad de la α -amilasa.

2.3.2. Amilopectina

Es un polímero semicristalino y altamente ramificado, formado por aproximadamente 595,238 unidades de D-glucopiranosas unidas por enlaces α -(1-4) que representa un 95% con ramificaciones unidas por enlaces α -(1-6) que representa el otro 5% de su estructura. Las ramificaciones se localizan aproximadamente cada 15 o 25 unidades de glucosa, aunque pueden excederse a 19 o 31 unidades dependiendo del contenido de amilosa presente en el almidón (Figura 5) (Tang y col., 2002) (Mua y Jackson, 1997).

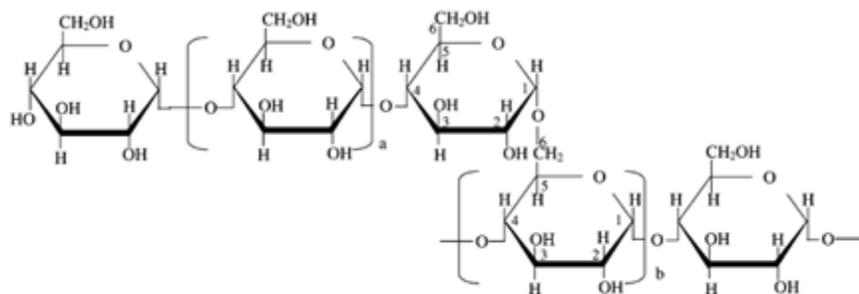


Figura 5. Estructura de la amilopectina (Tester y Karkalas, 2004)

Es una molécula mayor que la amilosa, sus cadenas unitarias de la amilopectina son relativamente cortas en comparación con las moléculas de amilosa. Por lo general, son de 18 a 25 unidades de largo, esta es el principal componente en la mayoría de los almidones (70-80%) (Tester y Karkalas, 2004).

Las cadenas de amilopectina son las responsables de las regiones cristalinas dentro del gránulo, mientras que la región amorfa está formada por puntos ramificados de la amilopectina y por la amilosa (Zobel, 1988). Las ramificaciones de la amilopectina tienen una mayor tendencia a interactuar entre ellas y forman estructuras cristalinas constituidas por dobles hélices. Las ramificaciones α -(1,6) de la amilosa al igual que las ramificaciones de la amilopectina, interactúan con otras cadenas para formar dobles hélices y así la amilosa permanece amorfa en el gránulo de almidón e intermezclada con la amilopectina. La difracción de rayos X se utiliza para examinar los patrones de difracción que las dobles hélices forman: tipo A, B y C (Zobel, 1988).

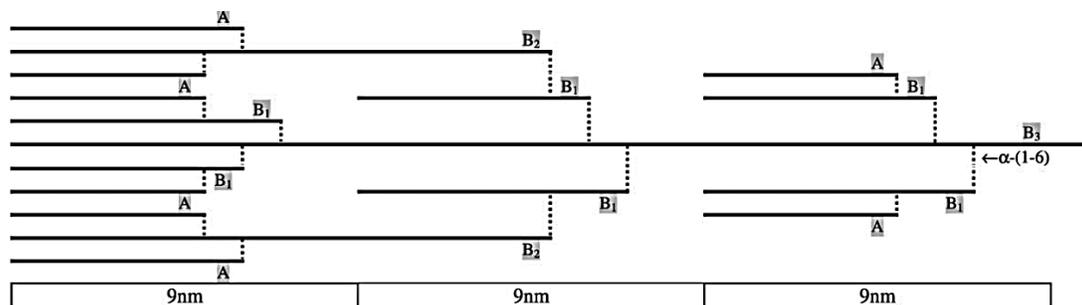


Figura 6. Representación esquemática de una sección de amilopectina (Tomada de Tester y col., 2004)

Con respecto a la estructura de la amilopectina, las cadenas A de la amilopectina son α -(1,6) unidas por cadenas B que a su vez pueden estar enlazadas a otras cadenas B o la "espin dorsal" de la molécula de amilopectina, la única cadena C (Figura 6). La cadena C es una combinación de los tipos A y B y consiste en moléculas de amilopectina con extremos no reducidos (Cheetham y Tao, 1998). Dependiendo de la longitud de cadena y al número de racimos atravesados dentro del gránulo nativo, las cadenas B se denominan B1-B4 (de uno a cuatro grupos) (Tester y Karkalas, 2004).

Las cadenas individuales pueden clasificarse específicamente en términos de sus longitudes y por consiguiente posicionarse dentro de gránulos de almidón (Figura 6). Las cadenas A y B1 son las más externas (exteriores) y forman hélices dobles (y cristalitos) dentro de los gránulos nativos y almidones con cristalinidad de tipo A como en cereales que tienen longitudes de cadena más cortas en promedio que los almidones de tipo "B". Con las cadenas exteriores de amilopectina (A y B1) que comprenden un intervalo de longitud de cadena de 12-24 residuos de glucosa, las cadenas tipo A son cadenas de 12 a 16 glucosas, y las B1 son cadenas de 20 a 24 glucosas. (Tester y Karkalas, 2004; Buléon y col., 1998; Imberty y col., 1991).

2.3.3. Gránulo de almidón

El almidón está organizado en partículas discretas conocida como gránulos, cuya morfología, composición química y estructura molecular son distintas de una especie a otra. Debido a que la amilopectina es el componente más abundante en el gránulo, es la responsable de (Hoseney y col., 1986; Tang y col., 2002):

- Una estructura organizada en forma de anillos (Figura 7), donde las moléculas de amilopectina se alinean a lo largo de un eje imaginario que se extiende desde el hilio (punto de origen) del gránulo hasta el exterior del mismo.
- Propiedad semicristalina formando 2 regiones (Figura 7), una cristalina y otra amorfa, que dan al gránulo su característica de birrefringencia, fenómeno conocido como cruz de malta.

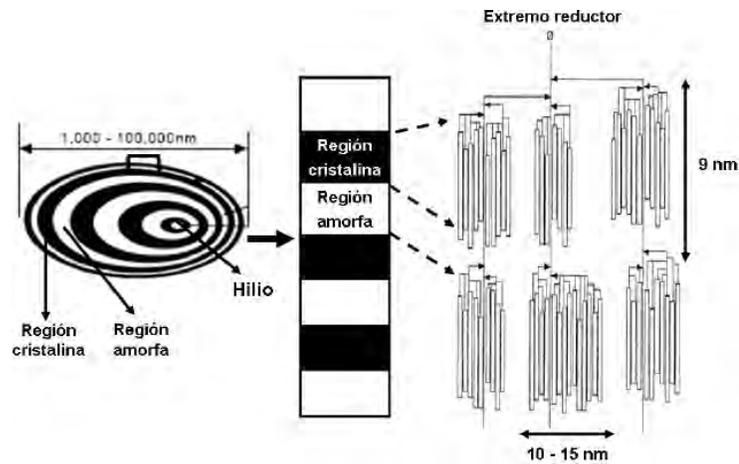


Figura 7. Representación de la estructura del gránulo de almidón (Bernal y Martínez, 2006; Tester y Debon, 2000)

French (1972) propuso un modelo el cual describe que la amilopectina se encuentra en racimos dentro del gránulo de almidón. Originando que las regiones cristalinas y amorfas se organicen en forma alternada. Las cadenas se organizan en dobles hélices, las cuales tiene y una longitud aproximada de 9 nm de largo.

La longitud de las cadenas de glucosa, la relación amilosa-amilopectina y el grado de ramificación de la amilopectina definen el tamaño, la estructura y la utilidad particular de los gránulos de almidón en cada especie vegetal. La naturaleza química de la amilosa provoca que forme asociaciones con pequeñas moléculas hidrófobas, por lo que es común que a la fracción de amilosa se encuentre asociada una proporción alta de lípidos (Morrison, 1995), mientras que la amilopectina contiene grupos fosfatos.

Los gránulos de almidón contienen otros compuestos en cantidades mínimas como las proteínas, lípidos y minerales. Donde las proteínas y lípidos son los más importantes (Bemiller y col., 1984). Las proteínas se encuentran asociadas al gránulo de almidón, dividiéndose en dos grupos: las proteínas de almacenamiento que permanecen unidas indirectamente a la superficie del gránulo del almidón y son solubles en agua; y las proteínas asociadas al gránulo, que se encuentran unidas a su superficie conformando su estructura interna (Borén y col., 2004).

Las propiedades más importantes a considerar para determinar el uso del almidón en la elaboración de alimentos y otras aplicaciones industriales incluyen las fisicoquímicas: gelatinización y retrogradación; y las funcionales: solubilidad, hinchamiento, absorción de agua, sinéresis y comportamiento reológico de sus pastas y geles (Hernández y col., 2008; Smith, 2001).

2.3.4. Propiedades fisicoquímicas del gránulo de almidón

2.3.4.1. Tamaño y composición

Las características morfológicas de los almidones de diferentes fuentes vegetales varían con el genotipo y las prácticas culturales. La variación en el tamaño y la forma de los gránulos de almidón se atribuye al origen biológico (Svegmark y Hermansson, 1993). La morfología de los gránulos de almidón depende de la bioquímica del cloroplasto o amiloplasto, así como de la fisiología de la planta (Badenhuizen, 1969). El gránulo contiene típicamente una línea central conocida como el hilio o la "cruz de malta". Cada gránulo de almidón puede contener uno o más cruces de malta, y esta característica reduce la capacidad de birrefringencia del gránulo de almidón (Jiang, 2010).

Los gránulos de almidón tienen tamaños microscópicos con diámetros comprendidos entre 0.1 y 200 μm , y su morfología varía entre diferentes formas, como oval, elipsoidal, esférica, lisa, angular y lenticular, dependiendo de la fuente botánica (Buléon y col., 1998, Hoover, 2001, Singh y col., 2003). La distribución del tamaño puede ser uni, bi o polimodal (Tabla 2).

Tabla 2. Características de los gránulos de almidón de diferentes fuentes botánicas

Almidón	Forma	Distribución	Tamaño(μm)
Cebada	Lenticular (tipo A), esférico (tipo B)	Bimodal	15-25, 2-5
Maíz	Esférico/poliedrico	Unimodal	2-30
Mijo	Poliédrico	Unimodal	4-12
Avena	Poliédrico	Unimodal	3-10 (solo) 80 (compuesto)
Papa	Lenticular	Unimodal	5-100
Guisante	Rentiforme	Unimodal	5-10
Tapioca	Esférico/lenticular	Unimodal	5-45
Trigo	Lenticular (tipo A), esférico (tipo B)	Bimodal	15-35, 2-10

(Tester y col., 2002).

Los cereales comunes como el trigo, la cebada y el centeno contienen dos tipos de gránulos de almidón: tipo A, forma lenticular y gran tamaño y tipo B, forma esférica y tamaño pequeño (Tester y col., 2006; Vamadevan y Bertoft, 2015). Los gránulos de almidón tienen estructuras muy complejas. La complejidad se basa en las variaciones en su composición (α -glucanos, humedad, lípidos, proteínas y fosforilación), la estructura de los componentes y la variación entre las regiones amorfas y cristalinas (Alcázar y Meireles, 2015).

Mayoritariamente el almidón está compuesto por amilosa y amilopectina, su contenido depende de la fuente botánica del cual fue extraído el almidón. Estas influyen en las propiedades de los gránulos de almidón, ya que están directamente relacionadas con las propiedades térmicas y de viscosidad, cristalinidad, birrefringencia y funcionales. La cantidad de amilosa presente se ve afectado por las condiciones climáticas y el tipo de suelo durante el crecimiento (Singh y col., 2003). La actividad de las enzimas involucradas en la biosíntesis del almidón puede ser responsable de la variación en el contenido de amilosa entre los diversos almidones (Krossmann y Lloyd, 2000). Es por ello que el contenido de amilosa debe ser preciso. Estudios previos han demostrado que los métodos colorimétricos (basados en la formación del complejo amilosa-yodo) están influenciados por la longitud de la cadena

de la amilopectina (Hoover y Ratnayate, 2001). En los almidones normales y cerosos, la molécula ramificada (amilopectina) constituye la zona cristalina. Los patrones 'A', 'B' y 'C' son las diferentes formas poliméricas del almidón que difieren en el empaque de las hélices dobles de amilopectina (Singh y col., 2003).

El fósforo es uno de los componentes presentes en el gránulo de almidón y afecta significativamente sus características funcionales. El fósforo está presente como fosfatos de monoéster o fosfolípidos en diversos tipos de almidones, estos están asociados con la fracción de amilopectina por enlaces covalentes, aumentando la claridad y la viscosidad de la pasta, mientras que la presencia de fosfolípidos da lugar a pastas opacas y de baja viscosidad. Los fosfolípidos tienden a formar complejos con amilosa y ramas largas de amilopectina, dando como resultado gránulos de almidón con solubilidad limitada. (Morrison y col., 1993; Singh y col., 2003). La fosforilación en la posición C-3 principalmente, puede modificar el empaquetamiento de las dobles hélices y esto de alguna manera puede alterar el ordenamiento del gránulo y cambiar la interacción con las proteínas que se asocian con el almidón para llevar a cabo su degradación, pues se tienen evidencias de que si se disminuye el grado de fosforilación también la degradación se ve disminuida (Blennow, 2002).

La presencia de lípidos en el almidón puede tener un efecto reductor sobre la hinchazón de los gránulos individuales (Galliard & Bowler, 1987). El poder de hinchamiento y la solubilidad proporcionan evidencia de la magnitud de la interacción entre las cadenas de almidón dentro de los dominios amorfo y cristalino. La extensión de esta interacción está influenciada por la relación amilosa-amilopectina, y por sus características de ambas estructuras (Hoover, 2001).

2.3.4.2. Cristalinidad

Como se mencionó anteriormente, la amilosa asociada con grandes ramas de moléculas de amilopectina comprende la región amorfa de los gránulos, y las moléculas de amilopectina con ramas cortas comprenden la región cristalina; por lo tanto, una mayor proporción de amilopectina en los gránulos de almidón produce una mayor cristalinidad (Cheetham y Tao, 1998). Los gránulos de almidón se encuentran en un sistema polimérico semicristalino

(estructura cristalina tridimensional), donde la cristalinidad varía de 15 a 45% (Zobel, 1988; Eerlingen y Delcour, 1995).

En el polimorfismo tipo A las dobles hélices están empaquetados en forma monoclinica, es compacto y contiene de 4-8 moléculas de agua; en el polimorfismo tipo B presenta dobles hélices en forma hexagonal, estructura abierta y con 36 moléculas de agua (Buléon y col., 1998; Imberty y col., 1991). El ordenamiento de los gránulos de almidón puede variar desde el hilio (centro) hasta la periferia (Sevenou y col., 2002).

2.3.4.3. Birrefringencia

La birrefringencia es la capacidad de refractar doblemente la luz polarizada. Todos los gránulos de almidón en su forma nativa presentan birrefringencia que es proporcional a su estructura cristalina (observándose una cruz oscura con centro en el hilio), en donde la mayor parte de las moléculas de almidón se arreglan en dirección radial desde el hilio hacia la periferia. Los patrones de birrefringencia en los gránulos de almidón representan la disposición radial de las moléculas de amilopectina y sus cadenas que forman ángulos de 90 ° con los extremos reducidos en la dirección del hilio o centro del gránulo de almidón. Los patrones de birrefringencia débiles son indicativos de la desorganización de la región cristalina (BeMiller y Whistler, 2009).

La pérdida de birrefringencia en gránulos de almidón está asociada con la deformación debido a la modificación estructural que éste tiene (Liu y col., 1991). Los almidones nativos de las diferentes especies de vegetales tienen como característica fundamental que sus propiedades fisicoquímicas y funcionales estarán influenciadas por sus estructuras granular y molecular (Wang y White, 1994); durante el proceso de gelatinización, el orden molecular dentro de los gránulos es destruido gradual e irreversiblemente provocando la pérdida de birrefringencia y a su vez la disminución de la cristalinidad del gránulo de almidón; por esto la temperatura de gelatinización es característica para cada tipo de almidón y depende fundamentalmente de la transición vítrea de la fracción amorfa del almidón (Eerlingen y Delcour, 1995).

2.3.4.4. Transición vítrea

La temperatura de transición vítrea (T_g) es un parámetro que afecta las propiedades físicas de los polímeros. La transición vítrea se produce de forma similar a una transición termodinámica de segundo orden, donde el volumen específico y la entalpía son funciones de la temperatura (Biliaderis y col., 1999). Describe la temperatura de inducción de la transición progresiva desde un estado amorfo a un estado gomoso a medida que el material se calienta, generalmente en presencia de un disolvente o plastificante cuando se hace referencia a polisacáridos (Tester y Debon, 2000).

Los gránulos de almidón son insolubles en agua fría debido a los enlaces de hidrógeno y la cristalinidad de la molécula. Cuando el almidón se dispersa en agua caliente por debajo de su temperatura de transición vítrea, los gránulos de almidón se hinchan y aumentan varias veces en tamaño, rompiendo las moléculas y consecuentemente lixiviando amilosa para formar una red tridimensional y aumentando la viscosidad de la pasta (Sarker y col., 2013). La pasta de almidón puede contener gránulos no hinchados, gránulos parcialmente hinchados, agregados de gránulos de almidón hinchados, fragmentos y moléculas de almidón retrogradado y almidón que se ha disuelto o precipitado (BeMiller y Whistler, 2009).

2.3.4.5. Capacidad de hinchamiento y solubilidad de los gránulos de almidón

Una de las características estructurales más importantes del almidón es que pasa por varias etapas diferentes, desde la absorción de agua hasta la desintegración de los gránulos. La absorción de agua y la consiguiente hinchazón del gránulo de almidón contribuyen a la separación de fases de amilopectina-amilosa y pérdida de cristalinidad, lo que a su vez promueve la lixiviación de amilosa en el espacio intergranular (Conde y col., 2001). Cuando las moléculas de almidón se calientan en exceso de agua, la estructura semicristalina se rompe y las moléculas de agua se asocian mediante enlaces de hidrógeno a grupos hidroxilo expuestos en las moléculas de amilosa y amilopectina. Esta asociación provoca hinchazón y aumenta el tamaño y la solubilidad de los gránulos (Singh y col., 2003). La capacidad de hinchamiento y la solubilidad del almidón ilustran las interacciones de las cadenas

poliméricas que comprenden las fracciones de gránulos amorfos y cristalinos (Zhang y col., 2005). El grado de esta interacción está influenciado por la proporción de amilosa-amilopectina y es característico de cada molécula dependiendo del grado de polimerización, longitud y grado de ramificación de la cadena, peso molecular y conformación molecular (Hoover, 2001; Ratnayake y Hoover, 2002). La capacidad de hinchamiento del almidón está directamente asociada con el contenido de amilopectina porque la amilosa actúa como un diluyente e inhibidor del hinchamiento (Singh y col., 2003).

La etapa de hinchamiento de los gránulos de almidón es el paso inicial de todas las demás características de pasta. Inicialmente, la hinchazón de los gránulos es reversible, aumentando su volumen hasta un 30% (Gryszkin y col., 2014). La absorción de agua y el calentamiento de la dispersión de almidón rompen los enlaces de hidrógeno responsables de la cohesión de los gránulos, solubilizando parcialmente el almidón, este proceso conduce a una hinchazón irreversible, aumentando el tamaño del gránulo varias veces y la viscosidad de la pasta (Hoover, 2001).

2.3.4.6. Propiedades reológicas y térmicas

La pasta de almidón se forma inmediatamente después de la gelatinización, y los gránulos de almidón son cada vez más susceptibles a la desintegración por cizallamiento debido a que están hinchados. La pasta obtenida es una masa viscosa consistente en una fase continua de amilosa solubilizada y/o amilopectina y una fase discontinua de los restantes gránulos de almidón (Ambigaipalan y col., 2011). La funcionalidad de almidón está directamente relacionada con la gelatinización y las propiedades de la pasta. Las características del almidón nativo, los efectos de las modificaciones físicas o químicas de los gránulos, el parámetro del proceso y las fuentes botánicas del almidón son factores críticos que rigen el comportamiento y las características de la pasta de almidón. La transformación del almidón durante la fabricación depende de la relación temperatura-tiempo-mezcla y de la proporción de modificación durante el procesamiento (Conde y col., 2001).

Los gránulos de almidón son insolubles en agua fría debido a los enlaces de hidrógeno y la cristalinidad de la molécula. Cuando el almidón se dispersa en agua caliente por debajo de

su temperatura de transición vítrea, los gránulos de almidón se hinchan y aumentan varias veces en tamaño, rompiendo las moléculas y consecuentemente lixiviando amilosa para formar una red tridimensional y aumentando la viscosidad de la pasta (Sarker y col., 2013). La pasta de almidón puede contener gránulos no hinchados, gránulos parcialmente hinchados, agregados de gránulos de almidón hinchados, fragmentos y moléculas de almidón retrogradado y almidón que se ha disuelto o precipitado (BeMiller y Whistler, 2009).

La característica básica de la reología del almidón es su viscosidad, textura, transparencia o claridad, resistencia al corte y la tendencia a la retrogradación. Todas estas características juegan un papel importante en las aplicaciones comerciales del almidón (BeMiller y Whistler, 2009; Berski y col., 2011). Las propiedades reológicas del almidón se estudian a través del comportamiento de las curvas de viscosidad, que están influenciadas por la temperatura, la concentración y el esfuerzo cortante (Singh y col., 2003). Instrumentos como el analizador rápido de viscosidad describen el parámetro de viscosidad como funciones de temperatura y tiempo. El analizador rápido de viscosidad describe el comportamiento de la pasta en tres periodos: (1) un periodo de calentamiento controlado, aumentando la temperatura de la suspensión desde la temperatura ambiente hasta un máximo que se determina generalmente a 95°C; (2) un periodo isotérmico, manteniendo la suspensión a la temperatura máxima para análisis; y (3) un periodo de enfriamiento, disminuyendo la temperatura a aproximadamente 50°C. A lo largo del análisis, la suspensión se somete a fuerzas de corte. Las suspensiones exhiben típicamente un pico de viscosidad que comienza después de la gelatinización y aumenta a medida que los gránulos se hinchan, seguido por una disminución de la viscosidad debido a la desintegración de los gránulos y al realineamiento del polímero. Un "Desglose" se define por una diferencia entre el pico de viscosidad y la viscosidad mínima a la temperatura máxima de análisis. Durante el periodo de enfriamiento, la lixiviación de amilosa forma un gel o una red tridimensional. La formación de gel aumenta adicionalmente la viscosidad, denominada "viscosidad en pasta fría". La diferencia entre la viscosidad de la pasta al final del periodo de enfriamiento y la viscosidad mínima a 95 °C se denomina "retroceso" (Saunders y col., 2011; Wang y Weller, 2006).

La viscosidad de la pasta de almidón se asocia con lípidos, principalmente fosfolípidos, que forman complejos con la amilosa y dificultan o reducen la capacidad de hinchamiento del

gránulo. Otros efectos asociados con la viscosidad de la pasta son disminución de la solubilidad de la amilosa, aumento del tiempo de formación y propiedades gelificantes limitadas. Los complejos de amilosa-lípido requieren altas temperaturas para la disociación (Singh y col., 2003). La reología es ampliamente reconocida por su efecto sobre la calidad de los alimentos y sus características sensoriales. Las propiedades reológicas del almidón determinan su potencial aplicación como agente espesante o gelificante (Berski y col., 2011).

La determinación de las propiedades térmicas del almidón implica términos tales como la temperatura de inicio (T_o), la temperatura máxima (T_p), la temperatura de conclusión (T_c), la diferencia entre T_c y T_o , y la entalpía de fusión, todos los cuales pueden medirse usando equipos como un Calorímetro de barrido diferencial (Kong y col., 2012) y dependen de la concentración de almidón (Waterschoot y col., 2015). Durante el calentamiento, T_o es la temperatura a la que comienza a aumentar la viscosidad de la pasta; T_p es la temperatura de viscosidad máxima; Y T_c es la temperatura final del incremento de viscosidad. ($T_c - T_o$) es una medida comparativa, y un aumento en este valor indica una gran cantidad de modificación de gránulos en las regiones amorfa y cristalina (Jenkins y col., 1993; Kong y col., 2012).

Algunos investigadores incluyen la retrogradación entre las propiedades térmicas del almidón. Esta propiedad de pasta típicamente comienza 20 °C por debajo de su temperatura de gelatinización (T_{gel}), y la retrogradación es proporcional a la presencia de amilopectina (Tan y col., 2006; Yuan y col., 1993). Las variaciones en las propiedades térmicas del almidón después de la gelatinización ya lo largo del almacenamiento refrigerado pueden atribuirse a variaciones en la relación amilosa/amilopectina, tamaño y forma del gránulo y presencia o ausencia de lípidos y proteínas (Singh y col., 2003).

2.3.5. Propiedades funcionales del almidón

2.3.5.1. Gelatinización

El orden cristalino en los gránulos de almidón es a menudo el factor subyacente básico que influye en las propiedades funcionales. El colapso del orden cristalino dentro de los gránulos

de almidón se manifiesta como cambios irreversibles en las propiedades, tales como hinchamiento de gránulos, pegado, pérdida de la birrefringencia óptica, pérdida del orden cristalino, desenrollamiento y disociación de las hélices dobles y solubilidad del almidón (Atewll y col., 1988; Hoover, 2001).

Los gránulos de almidón no son solubles en agua a temperatura ambiente, debido a su estructura semicristalina. Cuando se encuentra con suficiente agua, los gránulos absorben una pequeña cantidad de ésta y se hincha hasta cierto límite (30-50% peso seco del almidón) (French, 1984). El almidón, cuando se calienta en presencia de exceso de agua, presenta una fase de transición conocida como gelatinización, y existe un intervalo de temperatura característico para la gelatinización correspondiente a cada especie de almidón. La gelatinización se produce cuando el agua se difunde en el gránulo, que luego se hincha sustancialmente debido a la hidratación de la fase amorfa, causando pérdida de cristalinidad y orden molecular (lixiviación de la amilosa) (Donovan, 1979). El proceso de gelatinización comienza en el hilio y se extiende rápidamente por toda la periferia; se produce inicialmente en la región amorfa, favorecida por los enlaces de hidrógeno débiles presentes en esta área. El proceso se extiende entonces a la región cristalina. La presencia de amilosa reduce el punto de fusión en la región cristalina y la cantidad de energía necesaria para iniciar la gelatinización (Sasaki y col., 2000). El proceso de gelatinización está representado por temperaturas de transición y entalpías de gelatinización en la pasta, y estas medidas son características para cada especie. Las altas temperaturas de transición corresponden a un alto grado de cristalinidad, alta estabilidad y resistencia de la estructura del gránulo a la gelatinización. Las diferencias en las temperaturas de transición entre los diferentes almidones pueden atribuirse a las diferencias en el grado de cristalinidad (Tester y Karkalas, 2004; Singh y col., 2003).

Se ha informado que la forma de gránulos, el porcentaje de gránulos grandes y pequeños y la presencia de ésteres de fosfato afectan los valores de entalpía de gelatinización de almidones (Stevens y Elton, 1971; Yuan y col., 1993).

Esta propiedad funcional del almidón es un proceso endotérmico, que corresponde a la disociación de las moléculas de almidón, las cuales se encuentran en una conformación con dobles hélices y pasan a una conformación amorfa. Uno de los métodos utilizados para

estudiarla es la calorimetría diferencial de barrido, la cual puede proporcionar las temperaturas y entalpías características de la transición de fase en los sistemas acuosos de almidón. El pico en la endoterma de la calorimetría diferencial de barrido refleja la pérdida de dobles hélices de la amilopectina (Tester y Morrison, 1990).

2.3.5.2. Retrogradación

Las interacciones moleculares (enlace de hidrógeno entre las cadenas de almidón) después del enfriamiento de la pasta de almidón gelatinizada se han denominado retrogradación (Hoover, 2000). Durante la retrogradación, la amilosa forma asociaciones de doble hélice de 40-70 unidades de glucosa (Jane y Robyt, 1984) mientras que la cristalización de amilopectina se produce por asociación de las ramas cortas más exteriores (Ring y col., 1987).

La retrogradación se presenta durante el almacenamiento prolongado de las dispersiones de almidón gelatinizado. Las moléculas de almidón, tras la gelatinización se presentan en forma amorfa, que se reasocian gradualmente formando cristales que están compuestos por dobles hélices de almidón (interacciones hidrofóbicas y puentes de hidrogeno). Las moléculas de amilosa se retrogradan más rápido que las moléculas de amilopectina. La velocidad de retrogradación depende de varios factores como: la longitud de las cadenas de la amilopectina, la concentración de lípidos y derivados de monoéster y fosfatos (Singh y col., 2003).

La recristalización de almidón se produce fácilmente a temperaturas inferiores a 0°C, pero también se produce por encima de 100°C. La retrogradación del almidón se intensifica por la repetida congelación y descongelación de la pasta (Leszczyński, 2004).

2.3.6. Modificación del almidón

La mayoría de los almidones nativos están limitados en su aplicación directa porque son inestables con respecto a los cambios en la temperatura, el pH y las fuerzas de cizallamiento

(Berski y col., 2011). Algunos gránulos de almidón son inertes, insolubles en agua a temperatura ambiente, altamente resistentes a la hidrólisis enzimática y por lo tanto carecen de propiedades funcionales. Los almidones nativos a menudo se modifican para desarrollar propiedades específicas tales como solubilidad, textura, adhesión y tolerancia a las temperaturas de calentamiento utilizadas en los procesos industriales (Singh y col., 2007).

Se han desarrollado métodos para producir almidones modificados con una variedad de características y aplicaciones, estos métodos alteran el polímero de almidón cambiando sus propiedades fisicoquímicas y atributos estructurales para aumentar su valor para las industrias alimentarias y no alimenticias (López y col., 2010). Las modificaciones del almidón incluyen métodos físicos, químicos y enzimáticos (Yadav y col., 2013).

Algunos estudios han sido realizados en cuanto a hidrólisis enzimática de almidón de diferentes fuentes para obtención de azúcares fermentables, son pocos los estudios que se han enfocado en la modificación de almidón por vía enzimática, sin embargo, se ha reconocido que mediante la hidrólisis de almidón es posible disminuir el peso molecular, disminuyendo el tamaño de las moléculas de almidón y la viscosidad de las dispersiones preparadas, lo que favorece la obtención de películas de mayor calidad dado que, el almidón modificado presenta alta estabilidad a cambios de pH y temperatura, aumentando la consistencia y el poder aglutinante, dando transparencia a la pasta, disminuyendo la retrogradación y aumentando la estabilidad ante el congelamiento y descongelamiento (Shamekh y col., 2002; Ariztizábal y col., 2007). Dentro de las modificaciones enzimáticas, se encuentra la germinación donde actúan las enzimas α -amilasa, β -amilasa, α -glucosidasa y dextrinasas que degradan los gránulos de almidón cambiando su funcionalidad y estructura (Van der Heden, 2015).

2.4. Germinación

La germinación es el conjunto de fenómenos por los cuales el embrión, que se halla en estado de vida latente dentro de la semilla, reanuda su crecimiento y se desarrolla para formar una plántula (Courtis, 2013). Esta inicia con la entrada de agua en la semilla (imbibición) y finaliza con el comienzo de la elongación de la radícula (Pita y Pérez, 1998). Dentro de los

requerimientos ambientales necesarios para la germinación se consideran esenciales el agua, el oxígeno y la temperatura (Van der Heden, 2015).

La germinación se comprende de cuatro etapas principales:

I. La imbibición de agua

Consiste en la absorción del agua necesaria para la rehidratación de proteínas y orgánulos celulares, transporte y para que se lleve a cabo las reacciones hidrolíticas (Van der Heden, 2015).

La cantidad de agua que penetra depende de las especies, en los cereales es del 40 al 60% del peso de la semilla seca y en algunas leguminosas asciende al 180%. La cantidad de agua absorbida por las diferentes especies depende del tipo de sustancias de reserva que contengan, aquellas con endospermo amiláceo tienen un grado de hidratación menor que las que presentan endospermo proteico, altamente hidratable. Las macromoléculas y estructuras se rehidratan y recuperan sus formas funcionales (Courtis, 2013).

II. La síntesis y activación de los sistemas enzimáticos:

En esta fase ocurren dos fenómenos fundamentales para la germinación. El primero es la reactivación de las enzimas, inactivadas por la extrema desecación y, el segundo, la síntesis de otras inexistentes (Courtis, 2013).

Para iniciar el crecimiento del embrión las reservas de la semilla se movilizan, convertidas de la forma insoluble a la soluble. Durante la germinación, se producen enzimas como amilasas y maltasas las que romperán el endospermo amiláceo a glucosa. Estas enzimas son producidas en la capa de aleurona que rodea al endospermo. En los cotiledones de las semillas que almacenan lípidos, los ácidos grasos son liberados de los cuerpos lipídicos por lipoxigenasas, entran en los glioxisomas (pequeños organelos) donde sucesivos ciclos de oxidación generan Acetyl-CoA, que será usada para formar succinato en el ciclo del glioxilato. Este ácido orgánico ingresa a la mitocondria y al ciclo de Krebs. El oxalacetato obtenido del ciclo de los ácidos tricarbónicos actuará posteriormente como sustrato para la síntesis de sacarosa (Courtis, 2013).

III. Degradación de las sustancias de reserva.

Las enzimas degradan las reservas de la semilla y ponen a disposición del embrión no sólo los nutrientes, sino también energía generada por la fermentación y la respiración de los sustratos solubilizados. Es así como los carbohidratos insolubles (almidón, inulina) son degradados por hidrolasas a monosacáridos solubles, como la glucosa, fructosa, etc. Los triglicéridos, principales lípidos de reserva de muchas leguminosas, son degradados en tres orgánulos: cuerpos lipídicos, mitocondrias y glioxisomas, que son descompuestos a glicerol y ácidos grasos. Las proteínas de reserva son hidrolizadas a aminoácidos por proteinasas. En los cereales y otras gramíneas, las proteínas de reserva se encuentran en forma de cuerpos proteicos en la capa de aleurona y en menor cantidad, en el endospermo (Courtis, 2013).

IV. Elongación de las células del embrión y emergencia de la radícula

El embrión dispone de suficientes nutrientes para crecer normalmente. Todos los productos de la hidrólisis nutren al embrión, para el inicio de su crecimiento (Courtis, 2013). Tiene lugar la emergencia de la radícula, lo que concluye el proceso germinativo (Van der Heden, 2015).

A partir de este momento su posterior desarrollo llevará la aparición de la plántula sobre el suelo (nascencia). La nascencia de las plántulas se clasifica en dos tipos según la situación de los cotiledones durante el desarrollo de la plántula: nascencia epigea y nascencia hipogea. En la nascencia epigea los cotiledones aparecen por encima del nivel del suelo y en la nascencia hipogea los cotiledones permanecen por debajo del nivel del suelo (Pita y Pérez, 1998; Raven y col., 1992).

Durante el desarrollo de la plántula, los nutrientes almacenados en los cotiledones se dirigen y se transportan a la plántula que está en crecimiento. Los cotiledones disminuyen de tamaño gradualmente, se debilitan, se marchitan y eventualmente caen. Entonces la plántula ya se ha establecido; ya no dependerá de las reservas de los cotiledones para su nutrición. La plántula se convirtió en un organismo autótrofo foto-sintetizador. Estas primeras etapas del desarrollo de la plántula son difíciles y en ellas se detectan elevadas tasas de mortalidad cuyas principales causas son la desecación, la depredación, enfermedades y la competencia entre las propias plántulas (Pita y Pérez, 1998).

2.4.1. Catabolismo de los compuestos de reserva

2.4.1.1. Lípidos

En muchas semillas las principales reservas están en forma de lípidos sobre todo triacilgliceroles (TAG) (Van der Heden, 2015).

Al igual que con los productos del catabolismo de almidón, la movilización de TAG son una fuente vital de carbono y energía para apoyar el crecimiento de la plántula. La hidrólisis inicia (lipólisis) por lipasas, enzimas que catalizan la ruptura hidrolítica de los enlaces de ésteres de ácidos grasos, para finalmente producir glicerol y ácidos grasos libres (FFA). Estos últimos entran en el glioxisoma para su conversión en ácido oxaloacético (OAA), que luego pasa a la mitocondria y finalmente al citosol para su conversión en sacarosa (Figura 8). El azúcar se transporta desde los cotiledones de almacenamiento hasta las regiones en crecimiento de la plántula, o desde el endospermo de almacenamiento hasta los cotiledones y de allí a lo largo de la plántula (Fincher, 2011).

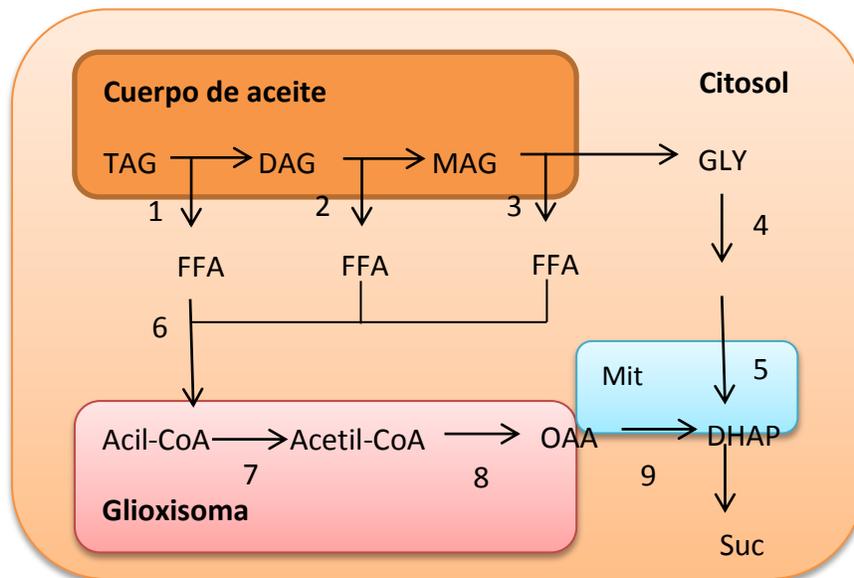


Figura 8. Metabolismo de los lípidos durante la germinación (Fincher, 2011)

2.4.1.2. Proteínas

La hidrólisis de las proteínas de almacenamiento (PSV) a sus aminoácidos constituyentes requiere una clase de enzimas llamadas proteasas, algunas de las cuales producen hidrólisis total mientras que otras producen polipéptidos pequeños que deben ser degradados adicionalmente por peptidasas. Las proteasas pueden clasificarse de la siguiente manera en relación con la forma en que hidrolizan sus sustratos:

Endopeptidasas: éstas rompen enlaces peptídicos internos dentro de la proteína para producir polipéptidos más pequeños (Van der Heden, 2015; Müntz y col., 2001).

Aminopeptidasas: secuencian el aminoácido terminal del extremo amino libre de la cadena polipeptídica, localizadas en el citosol; son activos a pH neutros o ligeramente alcalinos (Müntz y col., 2001).

Carboxipeptidasas: igual que las aminopeptidasas, pero los aminoácidos individuales son secuencialmente hidrolizados desde el extremo carboxilo de la cadena (Müntz y col., 2001).

Las proteasas en la capa de aleurona se activan gracias a las giberelinas e inicia la hidrólisis de las proteínas de almacenamiento presentes en el endospermo y la liberación de aminoácidos al complejo de síntesis de proteínas en el citoplasma, libera ácido málico que acidifica las células de almacenamiento hasta aproximadamente pH 5 optimizando así las condiciones para la actividad enzimática, activando también a otras enzimas clave para la movilización del almidón (Müntz y col., 2001).

2.4.2. Cambios en el grano durante la germinación

Existen investigaciones científicas donde reportan algunos de los cambios que presentan los granos al ser sometidos a un proceso de germinación. De acuerdo a lo publicado por Jensen y Heltved (1982) los granos de cebada germinados tuvieron un adelgazamiento de la capa de aleurona, una degradación de la pared celular, la modificación del endospermo por la hidrólisis del almidón y el aumento de su actividad enzimática con el transcurso de los días de germinación. Así mismo, Elkhalfa y Bernhardt (2010) determinaron la influencia de la

germinación del grano sobre las propiedades funcionales de la harina del grano de sorgo, obteniendo una harina con una mayor actividad emulsificante, menor concentración de gelificación y un aumento en sus propiedades funcionales (estabilidad y capacidad de espuma, menor densidad, mayor capacidad de absorción de aceite, entre otras).

Sun y col.,(2015)estudiaron la germinación del grano de arroz mutante comparado con un grano de arroz nativo; generando a los 10 días cambios estructurales en el gránulo de almidón del arroz mutante y una pérdida total de la estructura del gránulo de almidón del arroz nativo. En base a los rayos X presentados por los autores, el arroz mutante pertenece a un almidón de tipo A. La germinación del grano de arroz mutante disminuye el contenido de almidón resistente haciéndolo de fácil digestión.

You y col. (2016) reportaron que el proceso de germinación en granos de arroz integral ceroso aumenta las propiedades funcionales del almidón con una mayor digestibilidad y el aporte de malto oligosacáridos que de acuerdo a Gibson (Gibson, 2008) son considerados parcialmente prebióticos. You y col. (2016) a través de microscopía electrónica de barrido visualizaron un cambio en la estructura del gránulo de almidón, un aumento en la porosidad lo que lleva a una disminución en la cristalinidad del gránulo. En base a sus propiedades térmicas hubo una disminución debido a su cambio en la estructura molecular del gránulo de almidón.

Elin y col. (2004) y Kinsella (1979) informan que las modificaciones en la estructura proteica de los cereales durante el proceso de germinación son responsables de los cambios funcionales como la formación de espuma, la emulsificación, la solubilidad del nitrógeno y la capacidad de absorción de agua.

2.4.2.1. Hidrólisis de los carbohidratos

El almidón se encuentra en la forma de gránulos recubiertos por una matriz proteica, estas reservas se encuentran localizadas en la capa de aleurona y en el endospermo (Van der Heden, 2015).

El proceso de degradación inicia con la liberación de giberelinas por el embrión, hormonas vegetales que determinan la síntesis de los enzimas responsables de la degradación del almidón, estas enzimas hidrolíticas son sintetizadas en la capa de aleurona siendo cuatro las principales: la enzima α -amilasa (endohidrolasa) que rompe los enlaces glucosídicos α - (1 - 4) entre los residuos de glucosa aleatoriamente a través de las cadenas, hidroliza los oligosacáridos resultantes en con cooperación con una α -glucosidasa hasta que se producen glucosa y maltosa. Pero las α -amilasas no pueden hidrolizar los puntos de ramificación α - (1 - 6) de la amilopectina, lo que producen núcleos altamente ramificados de unidades de glucosa, denominadas dextrinas límite. Las ramas pequeñas deben ser liberadas por la enzima dextrinasa límite (enzima desramificadora que se encuentra presente en el endospermo y requiere de proteólisis para ser liberada) antes de ser hidrolizadas al monómero. La enzima β -amilasa (exohidrolasa), se encuentra presente en la semilla deshidratada en forma inactiva unida a cuerpos proteicos (la giberelina induce la reactivación de la misma mediante una endopeptidasa que separa la enzima de la proteína a la que está unida), su función es reducir el tamaño de los productos resultantes de la hidrólisis por parte de la α -amilasa y la α -glucosidasa (Van der Heden, 2015). La enzima α -glucosidasa (maltosa) convierte los residuos de maltosa en dos moléculas de glucosa. Esta enzima también puede dividir la glucosa de los malto-oligosacáridos de bajo peso molecular (Van der Heden, 2015; Higgins y col., 1976).

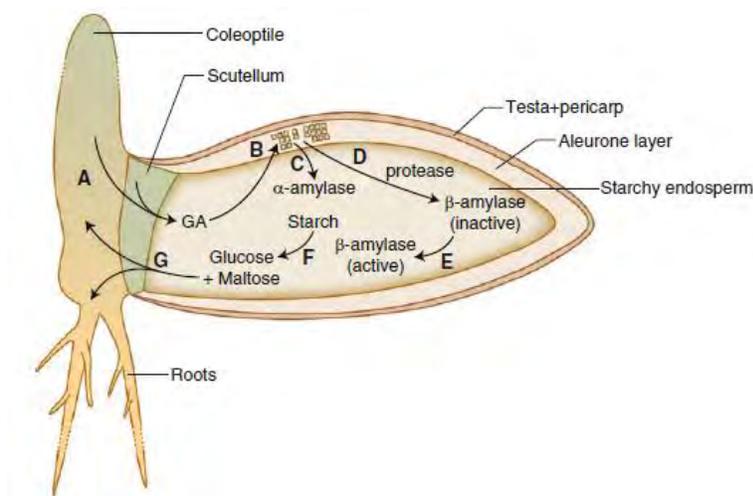


Figura 9. Diagrama de la germinación en granos de cebada (Higgins y col., 1976)

En la Figura 9 se muestra un diagrama de un grano de cebada para mostrar la relación entre el embrión y la capa de aleurona en la realización de la hidrólisis del almidón por α y β -amilasa. La giberelina (GA) se sintetiza en el embrión y se libera en el escutelo (A). Cuando alcanza la capa de aleurona (B) estimula la síntesis de una α -amilasa que difunde en el endospermo amiláceo (C) donde inicia la hidrólisis del almidón (F). La activación de la β -amilasa en el endospermo amiláceo (E) sigue a la liberación de proteasas de novo sintetizadas en la capa de aleurona (D); esta enzima hidroliza los polímeros de almidón (F) liberados inicialmente por una amilasa. Los productos de la hidrólisis del almidón, en su mayor parte glucosa y maltosa, son absorbidos por el escutelo (G) y se convierten en sacarosa para distribuirse a las plantas en crecimiento (Higgins y col., 1976).

III. JUSTIFICACIÓN

Un proceso de germinación es considerado como una modificación enzimática, debido a que permite cambios en los granos mediante el uso de enzimas propias del grano. Estos cambios pueden ser estructurales, morfológicos, fisicoquímicos o en sus propiedades funcionales del almidón, dichos cambios son favorables y aprovechados por la industria debido a las limitaciones que tiene el almidón en su forma nativa. Sin embargo son pocos los estudios que ha sido enfocados a las modificaciones enzimáticas que tienen los granos durante un proceso de germinación, en específico del grano de cebada. Es por ello que esta investigación busca ampliar los conocimientos de esta bioconversión y determinar la influencia que tiene el proceso de germinación sobre los cambios morfológicos, estructurales del grano y los cambios en las propiedades funcionales del almidón de la cebada. Para poder potencializar su uso en la industria alimentaria en beneficio del consumidor o en el desarrollo de alimentos con micronutrientes óptimos de acuerdo a la etapa.

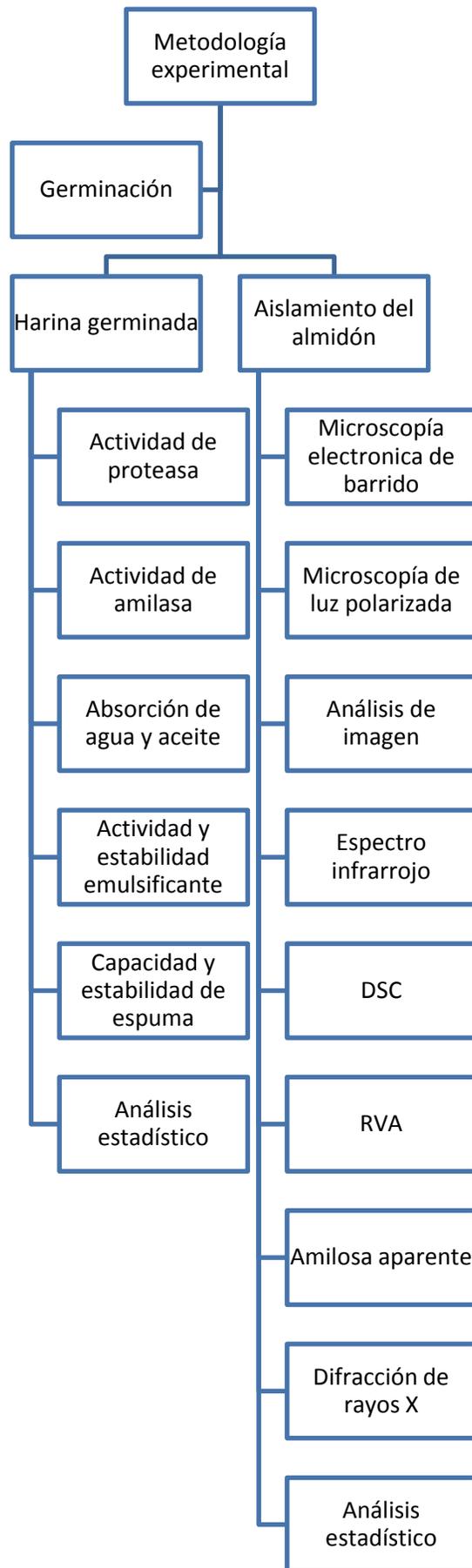
IV. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Evaluar los cambios morfológicos, microestructurales y funcionales de las variedades de cebada Esmeralda y Perla durante ocho días de germinación a través de técnicas instrumentales, con la finalidad de estudiar los cambios en los gránulos de almidón y harina germinada.

4.2. Objetivos específicos

- * Evaluar los cambios morfológicos y estructurales del grano de cebada y almidón durante el proceso de germinación a través de técnicas de microscopia y espectroscopia de infrarrojo.
- * Analizar las propiedades fisicoquímicas del gránulo del almidón en la cebada variedad Esmeralda y Perla germinada y sin germinar, mediante calorimetría diferencial de barrido y analizador rápido de viscosidad.
- * Evaluar el contenido de amilosa aparente y el cambio en la cristalinidad del gránulo del almidón en la cebada germinada y sin germinar, mediante Rayos X.
- * Examinar las propiedades funcionales de la harina de cebada (Esmeralda y Perla) germinada y sin germinar, a través de la estimación de la actividad enzimática y capacidad de absorción de agua y aceite



V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Germinación

Se limpiaron y seleccionaron los granos de cebada, la desinfección se hizo con hipoclorito de sodio al 0.5% por 15min, se enjuago con agua potable. Se remojaron los granos de cebada durante 24 horas con agua potable (1:2) a temperatura ambiente. Transcurrido el tiempo del remojo se escurrió y se pasaron a charolas para después germinarlos en una incubadora por 7 días a 26 °C, con 65% de humedad. La toma de muestras fue cada 24 h, con la medición del aumento del tamaño de radícula. Posteriormente una parte de la muestra se secó en estufa a 40 °C por 24 horas y se trituro (Guzmán, 2014).

5.2. Aislamiento del almidón

Se utilizó el método de aislamiento neutro de Adkins y Greenwood (1966) ya que produce un mínimo de modificaciones a los almidones. El grano germinado se remojo por un periodo de 16-24 horas en una solución reguladora de acetato de sodio 0.02 M con sales de cloruro de potasio 0.01 M en una relación 1:1 (v/v), la relación grano: solución fue de 1:2 (p/v), la mezcla se mantuvo en refrigeración (2-8 °C). Los granos germinados fueron drenados, lavados y molidos en una licuadora casera. Para la molienda se colocaron 150 g del grano germinado con 300 mL de agua destilada a una velocidad máxima por 1.5 min. Posteriormente se tamizo la pasta en mallas de 150, 212, 250 y 500 micras, en cada tamizado se lavaron los residuos con agua destilada hasta comprobar que el líquido de salida aparentemente no contenía partículas de almidón. El extracto se centrifugo a 3500 rpm durante 15 min, se desechó el sobrenadante y el precipitado se suspendió en una solución de NaCl 0.1 M con tolueno en una relación 7:1 (v/v), manteniéndose en agitación constante durante 15 horas a temperatura ambiente. Después se centrifugo nuevamente a 3500 rpm durante 15 min, desechando el sobrenadante. El precipitado presentó dos capas, la superior de aspecto mucilaginoso de color café y la inferior de color blanco que corresponde al almidón. Ambas capas se separaron cuidadosamente con la ayuda de una espátula, el almidón se secó en una estufa a 35 ± 3 °C durante toda la noche, el almidón se trituró y se tamizo en una malla de 100 micras para obtener un polvo homogéneo.

5.3. Microscopía electrónica de barrido

Una vez secadas y trituradas las muestras de granos germinados, las muestras se colocaron en un portamuestras de aluminio usando una cinta de carbono adherible de doble cara. Se recubrieron con oro mediante un electro depositador por 3 minutos, se observaron en un microscopio electrónico de barrido Jeol modelo JSM-6300, con una amplificación de 500, 1000, y 2000 a un voltaje de 20 KV (Paredes y col., 1989).

5.4. Microscopía de luz polarizada

Los gránulos de almidón germinados y sin germinar se examinaron para determinar la presencia de birrefringencia mediante microscopía de luz polarizada. Se usó un microscopio de luz polarizada (Leitz, Wetzlar, Alemania) con un objetivo de 10x y 40x, equipado con una cámara digital (modelo MTI DC-330, Dage, Chiba, Japón). Las muestras de almidón se espolvorearon en un portaobjeto y se colocó un cubreobjeto (Rivas y col., 2008). La captura de las imágenes se hizo con un software Pixela Image Mixer ver 3.0. Las imágenes se tomaron: deshidratadas, hidratadas, con luz normal y con luz polarizada.

5.5. Análisis de imagen

Se analizó la morfología del granulo de almidón, de las dos variedades de cebada germinadas y sin germinar, por microscopía electrónica de barrido (MEB) y microscopía de luz polarizada (MLP) utilizando el software imageJ, Java. Determinando los siguientes parámetros cuantitativos: Entropía, Área, perímetro, textura, dimensión fractal, diámetro (Kono y col., 2017).

5.6. Espectro infrarrojo

Una vez aislado el almidón las muestras se escanearon mediante un espectrómetro infrarrojo usando el método KBr a 27 °C (en una relación almidón/KBr de 4:1) (Lian y col., 2013). La

mezcla se prensó para obtener una pastilla y se analizó en un intervalo de resolución de 400-4000 cm^{-1} .

5.7. Calorimetría diferencial de barrido

Las muestras se pesaron en charolas de aluminio de 40 μL (2mg) y se les agregó agua destilada con una microjeringa (7 μL). Las charolas se cerraron herméticamente y se dejaron en reposo por 30min. Las muestras se calentaron en un intervalo de 30 a 100 $^{\circ}\text{C}$ a una velocidad de calentamiento de 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Se utilizó una charola cerrada herméticamente como referencia inicial. La temperatura inicial (T_0), la temperatura pico (T_p) o de gelatinización (T_g), la temperatura final (T_f) y la entalpía de transición (ΔH) se obtendrán directamente usando el software del calorímetro diferencial de barrido (TA Instruments) DSC Q2000 (You y col., 2016).

5.8. Analizador rápido de viscosidad

Las propiedades de pasta se analizaron usando un analizador rápido de viscosidad marca Perten Instruments modelo RVA4500. Se formaron suspensiones de almidón 12% con agua destilada (p/p), basándose en el % de humedad inicial de los almidones, estas suspensiones se mantuvieron a 95 $^{\circ}\text{C}$ durante 3 min a una velocidad de 60 rpm (You y col., 2016).

5.9. Determinación de amilosa aparente

El contenido de amilosa aparente se determinó utilizando el método empleado por Hoover y Ratnayake (2001). Se disolvieron 20 mg de muestra de almidón en base seca en 8 mL de dimetilsulfoxido al 90%), se agitaron vigorosamente por 20 minutos, y posteriormente se calentaron a 85 $^{\circ}\text{C}$ durante 15 min. Después se dejaron enfriar y se aforaron a un volumen de 25 mL. Se transfirió 1 mL de esta solución a un matraz aforado de 50 mL, se agregó 40 mL de agua destilada y 5 mL de una solución de I_2/KI , 1:1 (ambas soluciones de una concentración de 0.1%), se aforó con agua destilada y se dejó reposar por 15 min a una

temperatura de 18-22 °C. Finalmente, se midió la absorbancia a 600 nm en un espectrofotómetro UV-VIS. Se hizo una curva estándar de amilosa pura de patata y amilopectina (Tabla 3).

Tabla 3. Curva estándar de amilosa

% amilosa	µg/mL amilosa	Amilosa (mL)	Amilopectina (mL)
0	0	0	1
20	4	0.2	0.8
40	8	0.4	0.6
60	12	0.6	0.4
80	16	0.8	0.2
100	20	1	0

Se determinó la ecuación de regresión para la curva estándar ($y = 0.0209x + 0.0096$, $R^2 = 0.9908$; donde $x =$ % de amilosa y $y =$ la absorbancia a 600nm). Se utilizó la siguiente ecuación para calcular el contenido total de amilosa de la muestra. El resultado obtenido se comparó con la Tabla 4, se multiplicó por el % más cercano y se dividió entre su equivalente en µg/mL (en este caso se multiplicó por 20 y se dividió entre 4).

$$\% \text{ amilosa} = \frac{\text{abs} - 0.0096}{0.0209}$$

5.10. Difracción de rayos X y cristalinidad relativa

Los patrones de difracción de rayos X de los almidones se obtuvieron con un difractor de rayos X marca Inel, modelo Equinox 2000 operado a 30KV y 20mA. Obteniendo difractogramas a partir de un intervalo de exploración de 4 -110 ° (2θ) y velocidad de barrido de 2,0 °/min. La cristalinidad relativa se calculó siguiendo el método de dos fases descrito por López-Rubio y col. (2008) utilizando el software Origin 9.0.

5.11. Propiedades funcionales

5.11.1. Extracto enzimático

Se suspendieron 2g de harina de cebada germinada en 10 ml de agua destilada durante 1 hora a temperatura ambiente (27 ± 2 °C) con agitación ocasional y se centrifugaron a 10,000 g, por 10 min. El sobrenadante se tomó para el ensayo enzimático (Elkhalifa y Bernhardt, 2010).

5.11.2. Actividad de proteasa

La actividad de la proteasa se ensayó mediante el método de Elkhalifa, Chandrashekar y El Tinay (1999). Se añadió 1 mL del extracto enzimático a 1 mL de caseína al 1% y se incubó durante 1 hora a 40 °C en un baño de agua con agitación. Luego se añadieron 2 mL de ácido tricloroacético al 10% a la mezcla de enzimas, se dejó reposar durante 30 min a temperatura ambiente (27 ± 2 °C) y se filtró a través de papel de filtro Whatman No. 1. Se leyó la absorbancia a 280 nm en un espectrofotómetro Thermo SCIENTIFIC modelo GENESIS 10UV.

5.11.3. Actividad de amilasa

La actividad de la amilasa se midió usando el método de Bernfeld (1955). Se incubó 1 mL del extracto enzimático durante 1 hora con 0.5 mL de almidón soluble al 1% y 0.5 mL de tampón de acetato 0.1 M pH 4.5 en un baño María (37°C). Luego se añadieron 2 mL de ácido dinitrosalicílico (DNS) y se hirvió durante 20 minutos en un baño María. Después de enfriar, se aforo a 25 mL con agua destilada y se leyó la absorbancia de la solución a 550 nm en un espectrofotómetro Thermo SCIENTIFIC modelo GENESIS 10UV.

5.11.4. Capacidad de absorción de agua y aceite

Se pesó 1g de cada muestra de almidón de cebada germinada y sin germinar en un tubo de centrífuga pesado previamente y se añadieron 10 mL de agua destilada. Para la absorción de

aceite, se usaron 10 mL de aceite de maíz refinado. Las muestras se sometieron a agitación durante 1 minuto y se dejaron en reposo durante 30 minutos a $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ para después centrifugarlas a 4000 rpm/25 minutos. Las muestras se drenaron sobre papel. Los pesos de las muestras de agua y aceite ligado se determinaron por diferencia (Elkhalifa y Bernhardt, 2010).

5.12. Análisis estadístico de datos

Se realizó un análisis estadístico a través de un análisis de varianza (ANOVA) por la prueba de Tukey ($p < 0,05$) se evaluó utilizando el Programa de Software Estadístico IBM SPSS 16.0, USA.

VI. RESULTADOS

6.1. Microscopia electrónica de barrido

Las propiedades morfológicas de las muestras de granos de cebada sin germinar y germinados variedad Esmeralda y Perla se estudiaron usando un microscopio electrónico de barrido, dichos resultados se observan en las micrografías de la Figura 10 y 11.

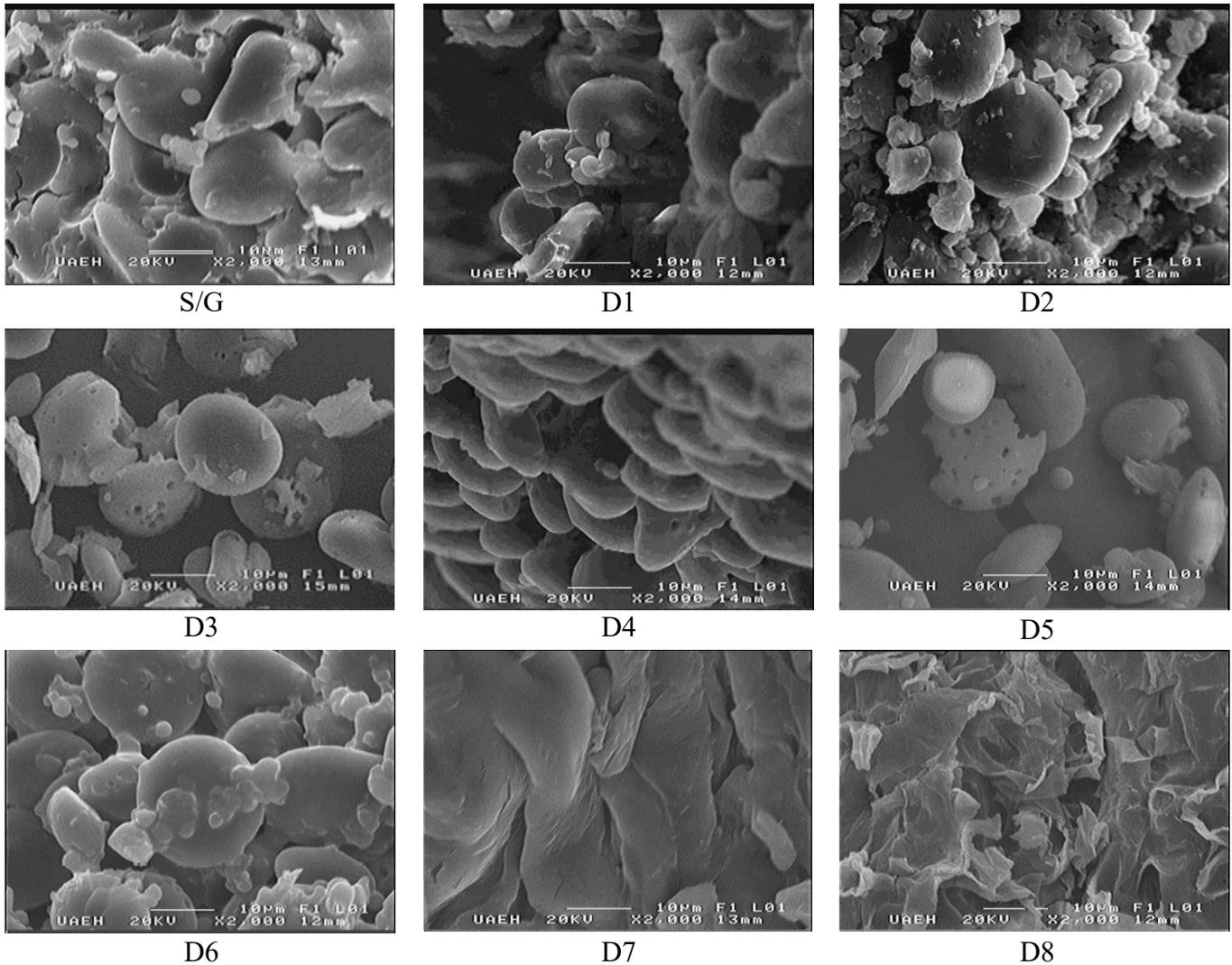


Figura 10. Morfología de los gránulos de almidón de la cebada Esmeralda sin germinar y germinada.
(Donde S/G=sin germinar, D1-8= días germinados)

Se observó que los gránulos de almidón de cebada variedad Esmeralda sin germinar están adheridos en una matriz proteica. Presentaron formas irregulares, algunos parecen tener

forma oval y otros poliédricos, ambos presentaron una superficie lisa (Figura 10 S/G); de igual forma que los gránulos de almidón de la variedad Perla (Figura 11, S/G).

En el día 1 de germinación para ambas variedades (Figura 10 y Figura 11, D1) los gránulos de almidón empezaron a ser liberados de la matriz proteica, esto puede ser debido a la activación de enzimas que se llevó a cabo durante el remojo de los granos (Van der Heden, 2015; Higgins y col., 1976).

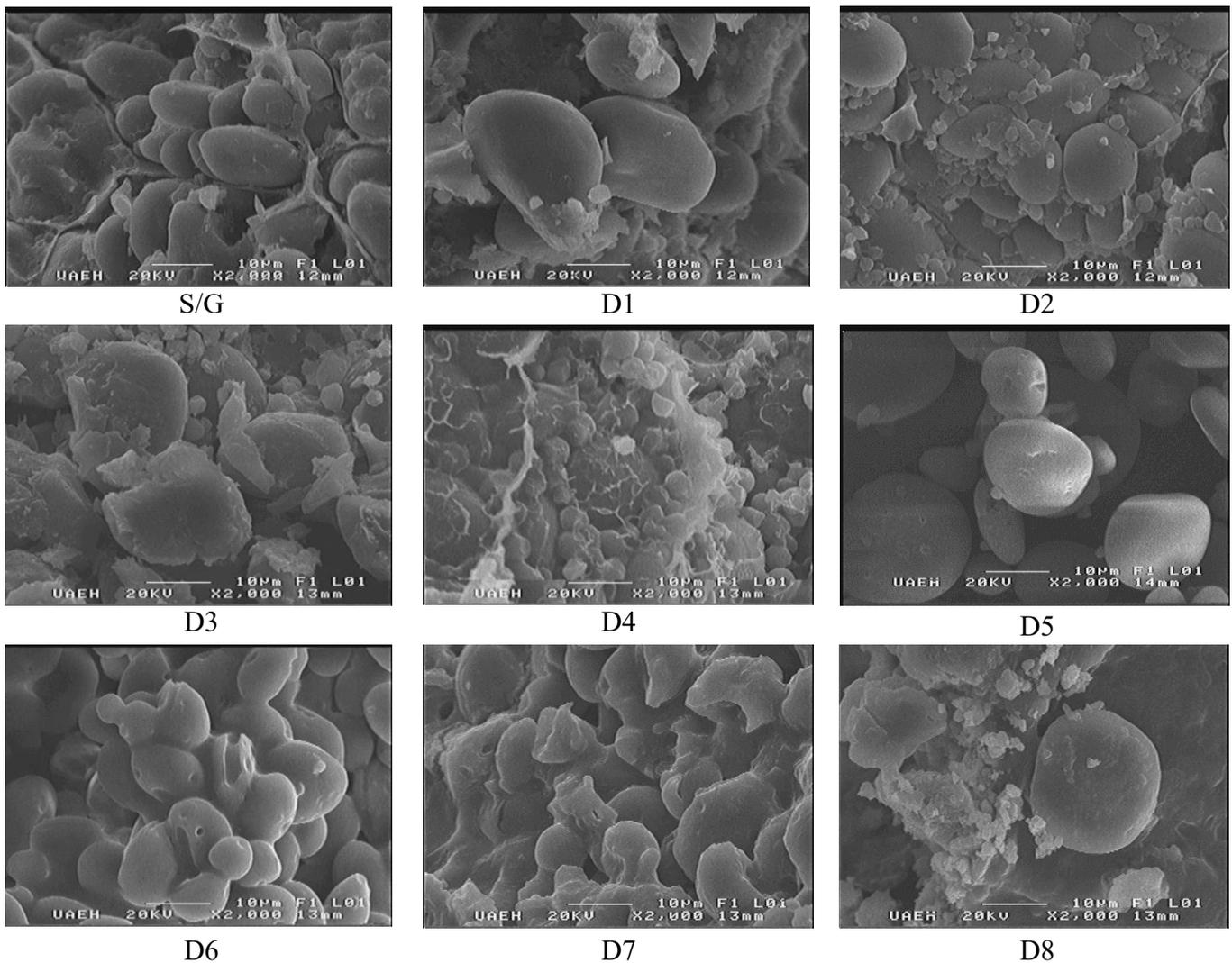


Figura 11. Morfología de los gránulos de almidón de la cebada Perla sin germinar y germinada.

(Donde S/G=sin germinar, D1-8= días germinados)

A partir del día 3 de germinación y hasta el día 6, se observó la presencia de pequeños poros en la superficie de los gránulos de almidón, además de una deformación de su morfología en la cebada variedad Esmeralda (Figura 10, D1-6). Sin embargo, para la variedad Perla, la apreciación de poros se hizo presente a hasta el día 5.

Al día 7 y 8 de germinación en la variedad Esmeralda, no se observó la presencia de almidón. La morfología observada son estructuras irregulares, que indican que, en este tiempo se ha hidrolizado completamente el almidón. En cuanto a la variedad Perla, al día 8 aún se encontraron gránulos de almidón sin ser hidrolizado completamente, aunque se observó que su morfología ha cambiado (superficie rugosa), Claver y col. (2010) atribuyen este comportamiento al aumento en la actividad enzimática conforme avanza la germinación.

Los cambios generados en los gránulos de almidón durante este proceso pueden estar relacionados con la actividad enzimática (Claver y col., 2010; Pita y Pérez, 1998). Se ha reportado que las amilasas se activan cuando son liberadas del endospermo por las giberelinas durante el remojo de la semilla (Van der Heden, 2015). Algunos estudios indican que la actividad máxima de la α -amilasa se presenta entre el día 3 y 5, para la proteasa puede ser a partir del día 5 de la germinación (Elkhalifa y Bernhardt, 2010, Kalita y col. 2017 y Baranzelli y col. 2018). La variación de la actividad enzimática depende de las condiciones de germinación y viabilidad de la semilla para mostrar diferentes cambios conforme pasa el tiempo de germinación. Además, el contenido de amilosa y amilopectinas está relacionado con los cambios morfológicos (Li y col., 2017). Se ha reportado que los almidones ceros (<15% de amilosa) son más susceptibles al ataque enzimático que los almidones normales (Srichuwong y Jane, 2007).

Kalita y col. (2017) reportaron un comportamiento similar durante la germinación de arroz malteado germinado durante 120 h a 30 y 35 °C, donde las micrografías del arroz nativo mostraron gránulos de almidón con una superficie regular sin modificaciones, sin embargo los gránulos perdieron su suavidad y aparecieron ásperos y erosionados en las micrografías de arroz malteado germinado (Anexos, Figura 20); atribuyéndole dicho comportamiento a la hidrólisis del almidón por las enzimas hidrolíticas producidas durante la germinación.

Así mismo, Xu y col. (2017) estudiaron el impacto de la germinación en semillas de adlay (*Coix lacryma-jobi*) donde la harina del almidón nativo se caracterizaba por una estructura compacta y homogénea con los gránulos de almidón rodeados por cuerpos de proteínas bien definidos y embebidos en una matriz cementada. Esta estructura continua se destruyó después de la germinación, y fue en aumento a medida que avanzaba la germinación (Anexos, Figura 21).

Li y col. (2017) reportaron el efecto de la germinación en la estructura del arroz integral, mijo, avena y sorgo; después de 48 h de la germinación los gránulos de almidón de los cereales estudiados mostraron una forma irregular con algunas abolladuras y huecos en la superficie de los gránulos (Anexos, Figura 22). Los cambios en la superficie y el aumento de los poros, están relacionados con la acción enzimática y a la proporción de amilosa y amilopectina.

Wu y col. (2013) demuestran que los cuerpos proteicos comienzan a desaparecer debido a la acción de enzimas proteolíticas activadas durante la germinación en gránulos de almidón de diferentes cultivos de arroz, obteniendo una actividad proteolítica máxima al cuarto día de un proceso de germinación. Los gránulos de almidón perdieron su superficie lisa, volviéndose más ásperos y ligeramente erosionados (Anexos, Figura 23). Después de cuatro días de germinación, la estructura continua se dañó gravemente, los cuerpos de proteínas se rompieron en gran medida y se observaron muchos fragmentos de tamaños no uniformes e irregulares.

Algunos investigadores han sugerido que los gránulos de almidón (cereales) se erosionan con una superficie más áspera con orificios de pasador durante la germinación (You y col., 2016; Wu y col., 2013; Tester y Morrison, 1990). La hidrólisis parcial del almidón se atribuye a la erosión de la superficie del gránulo o la digestión de los canales desde los puntos seleccionados en la superficie hacia el centro. La modificación desigual de la superficie puede atribuirse a la variación en la susceptibilidad a la actividad de las enzimas hidrolíticas durante la germinación. La enzima se difunde hacia la superficie sólida y se adsorbe a través de los sitios y finalmente se produce la reacción catalítica (Claver y col., 2010). La adsorción puede verse afectada por el tamaño de los gránulos, las características de la superficie y los constituyentes menores, como las proteínas y los lípidos en la superficie (Muralikrishna y

Nirmala, 2005). Después de la adsorción durante la reacción catalítica, los gránulos de almidón se hidrolizan por exocorrosión o endocorrosión. La exocorrosión implica principalmente la erosión de los gránulos de almidón completos o una parte de ellos por enzimas hidrolíticas, mientras que la endocorrosión implica la actividad de α -amilasa que hidroliza los enlaces presentes en la región interna del sustrato, lo que lleva a la creación de poros o cavidades (Claver y col., 2010). Estos poros o cavidades aumentan en sección transversal, lo que ayuda a la difusión de más enzimas a través de él, y finalmente lleva a las enzimas al centro del gránulo (Kalita y col., 2017).

6.2. Microscopía de luz polarizada

Con base a las micrografías anteriores se determinó que los días 2, 4, 6 y 8 de la germinación, así como el blanco (sin germinar) son las muestras que presentan mayor cambio en su morfología, por lo que se utilizó la técnica de microscopía de luz polarizada para observar con más detalle su morfología y observar claramente, el modelo típico de la "Cruz de Malta" resultante de la birrefringencia de las regiones cristalinas del gránulo de almidón, y su estructura característica.

La birrefringencia es la capacidad de refractar doblemente la luz polarizada. Todos los gránulos de almidón en su forma nativa exhiben una birrefringencia que es proporcional a su estructura cristalina (BeMiller y Whistler, 2009).

Una característica de los gránulos de almidón bajo luz polarizada es que ellos presentan dos bandas oscuras, las cuales forman una cruz en varias orientaciones de la superficie. Esta propiedad de los almidones es el elevado orden de la estructura de las capas de amilosa y amilopectina dentro de los gránulos. Piperno (2006) indicó que la forma del grano en sus tres dimensiones, contorno, características de la superficie, forma y posición del hilio, número y características de fisuras, así como el tamaño y morfología de los brazos que forman la cruz con la polarización, son los criterios a tomar en cuenta para su identificación.

En la Figura 12, se presentan las micrografías de luz polarizada para la cebada Esmeralda, el almidón del grano de cebada sin germinar muestra una cruz de malta indicando que no hay daño o modificación alguna en el almidón. Al día 2 algunos gránulos de almidón no tienen

la cruz de malta, debido a que tuvieron cambios morfológicos a causa de la acción enzimática de la germinación; para el día 4 son más los gránulos de almidón que ya no presentan birrefringencia indicando la pérdida del ordenamiento molecular de la zona cristalina (Jane y col., 2003). Esta pérdida de birrefringencia se hace más evidente conforme avanza la germinación, al día 6 la mayor parte de los gránulos han sido modificados por la hidrólisis enzimática (Claver y col., 2010).

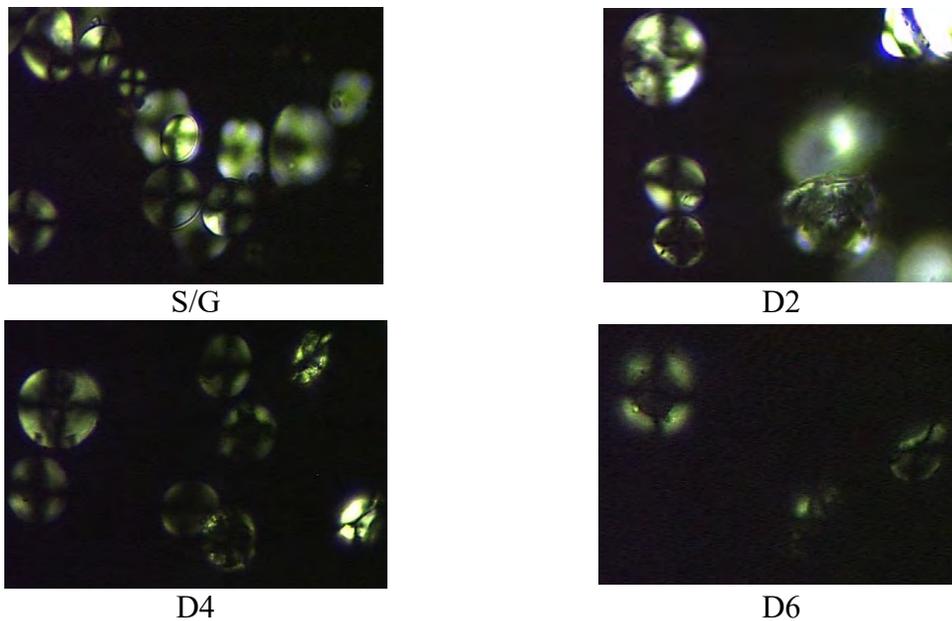


Figura 12. Cruz de malta de los gránulos de almidón de cebada Esmeralda. (40X, Luz polarizada, muestra hidratada; S/G= sin germinar, D2-6= días germinados).

Al igual que la variedad Esmeralda, el grano sin germinar de la variedad Perla no mostró modificación alguna ya que se observa claramente la cruz de malta en todos los gránulos de almidón (Figura 13). De igual manera, conforme avanza los días de la germinación esta característica de birrefringencia se va perdiendo cada vez más, ya que no es visible la cruz de malta. Al día 8 (Figura 13), se puede observar como los gránulos de almidón fueron hidrolizados, debido a que la cruz de malta no se presenta en todos los gránulos de almidón.

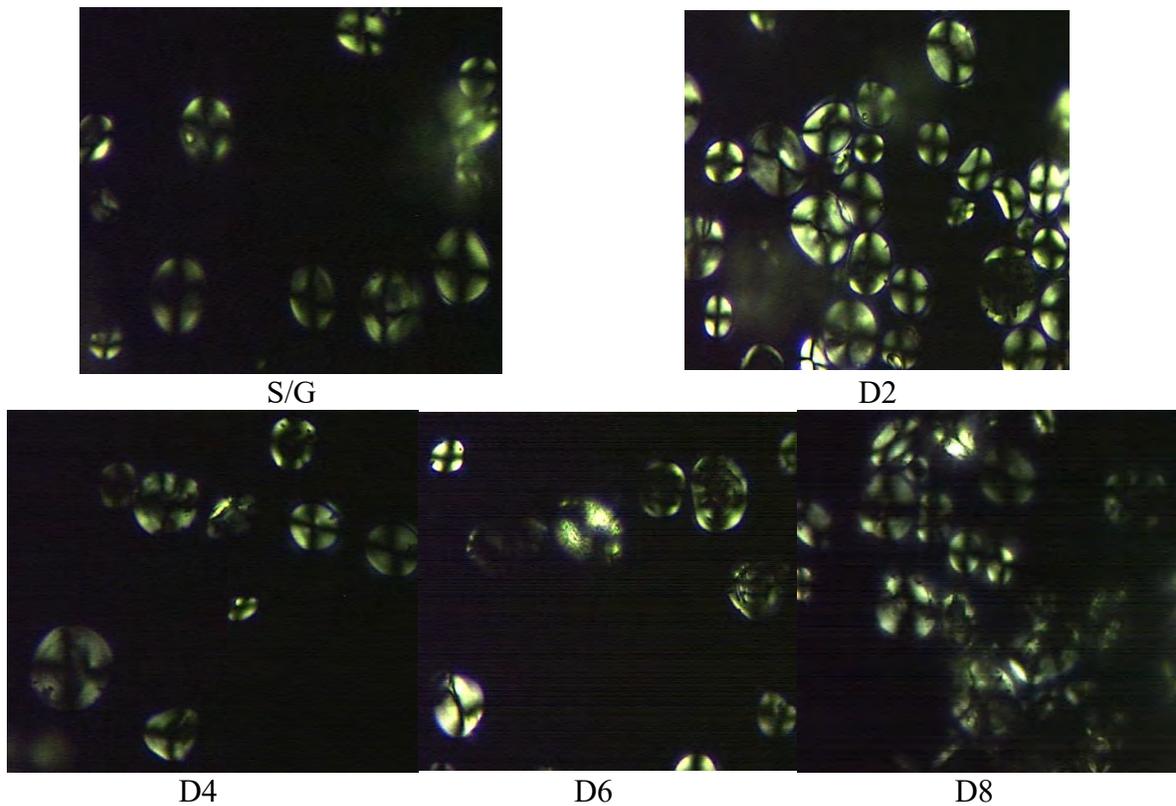


Figura 13. Cruz de malata de los gránulos de almidón de cebada Perla.
 (40X, Luz polarizada, muestra hidratada; S/G= sin germinar, D2-8= días germinados)

En la Figura 14 y 15, se aprecian los gránulos de almidón sin hidratar en un microscopio de luz polarizada en campo claro, a diferencia de las micrografías de barrido en estas se puede observar con más detalle la presencia de poros y la deformación de los gránulos. Sin embargo, se obtuvo una discrepancia comparado con microscopía electrónica de barrido, ya que el gránulo de almidón presenta poros pequeños desde el día 2 de la germinación, al transcurrir los días hay mayor cantidad de poros y de mayor tamaño. Esta discrepancia se debe a que las ampliaciones tomadas en microscopía electrónica de barrido no fueron mayores a 2000, por lo que no fue posible observar la formación de los poros a comparación de la técnica de microscopía de luz polarizada que es más detallada.

Se aprecia la deformación de la superficie lisa de los gránulos de almidón a causa de la hidrólisis enzimática estos se agrietan perdiendo su forma esférica u ovalada, símbolo de que el gránulo de almidón fue hidrolizado.

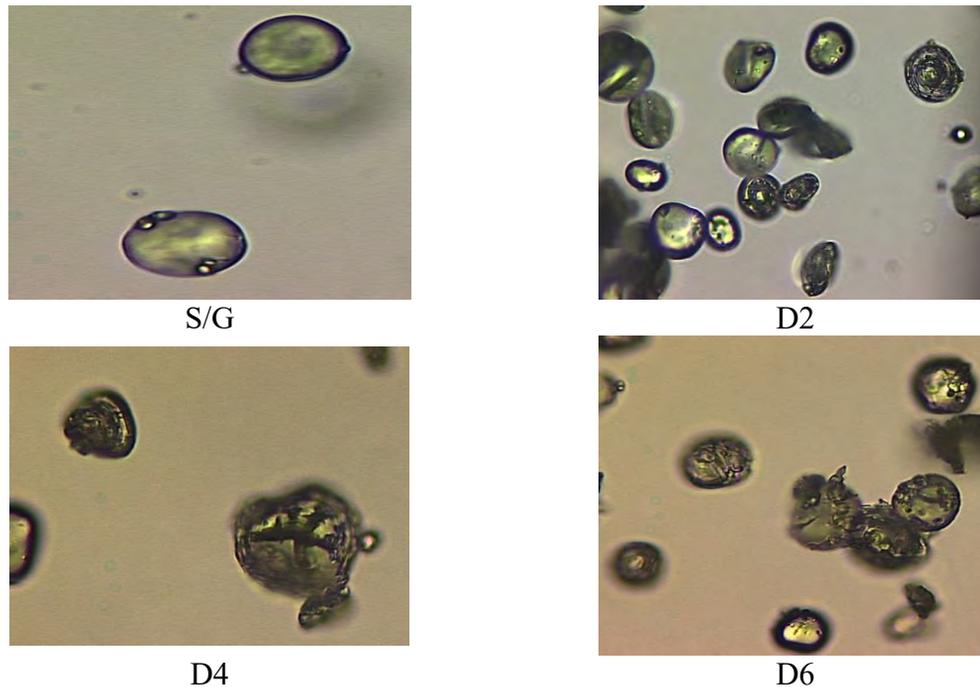


Figura 14. Gránulos de almidón de cebada Esmeralda, observados con luz normal. (40X, Luz normal, muestra sin hidratar; S/G= sin germinar, D2-6= días germinados)

La pérdida de birrefringencia en los gránulos de almidón se asocia con la modificación de su estructura granular (Liu y col., 1991). Mediante esta técnica se permite observar el grado de daño que tuvo el gránulo de almidón en su estructura causada por factores como la temperatura, procesos hidrolíticos o acción enzimática.

Meaño y col. (2016), reportaron la caracterización morfológica del almidón de ñame con la presencia de la cruz de malta, característica de un gránulo de almidón sin modificaciones. Así mismo, Prieto y col. (2010) utilizaron la técnica de microscopía de luz polarizada para determinar la caracterización del almidón de cebada nativo y su modificación por acetilación, observando la pérdida de la birrefringencia y consecuentemente la disminución de la cristalinidad cuando este fue modificado. Rivas y col. (2008) publicaron la caracterización

morfológica y molecular del almidón de plátano nativo y modificado por oxidación y lintnerizado, obteniendo una pérdida en el orden de la estructura de las moléculas de los almidones modificados.

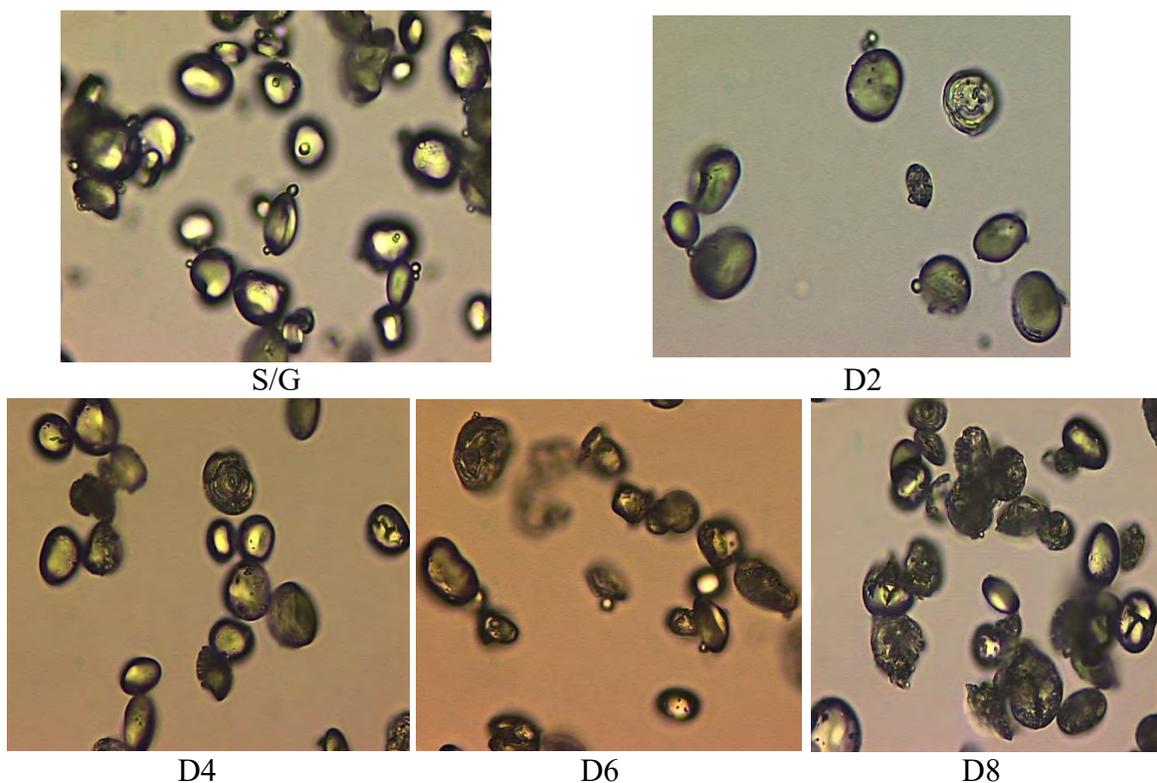


Figura 15. Gránulos de almidón de cebada Perla, observados con luz normal. (40X, Luz normal, muestra sin hidratar; S/G= sin germinar, D2-8= días germinados)

6.3. Análisis de imagen

Se analizaron las micrografías obtenida mediante microscopía electrónica de barrido (MEB) y microscopía de luz polarizada (MLP), usando el método de análisis de imagen mediante el software ImageJ (programado en Java desarrollado en el National Institutes of Health), dicho método es sensible a la estructura, el tamaño y la fracción de área, aportando parámetros cuantitativos a dicha investigación.

En la Tabla 4, se muestran los resultados cuantitativos que se obtuvieron para dimensión fractal, entropía, área, perímetro, circunferencia y forma de los gránulos de almidón de las variedades de cebada Esmeralda y Perla, germinadas y sin germinar.

Tabla 4. Análisis de imagen sobre el efecto de un proceso de germinación en gránulos de almidón de Cebada germinada y sin germinar.

Cebada variedad Esmeralda						
Días	Dimensión fractal (pendiente)	Entropía	Área	Perímetro	Circunferencia	Redondez
S/G	2.44±0.11 ^a	0.79±0.012 ^d	6738.89±553.37 ^a	319.91±7.07 ^a	0.81±0.05 ^a	0.85±0.07 ^a
2	2.23±0.17 ^{ab}	2.82±0.77 ^c	4589.10±276.45 ^b	310.93±5.08 ^{ab}	0.74±0.05 ^a	0.78±0.04 ^a
4	1.95±0.08 ^b	6.52±0.62 ^b	3082.68±307.47 ^c	287.63±11.80 ^b	0.72±0.05 ^a	0.63±0.04 ^b
6	1.20±0.12 ^c	10.09±0.18 ^a	1493.15±260.73 ^d	197.60±11.33 ^c	0.42±0.09 ^b	0.29±0.06 ^c
8	No detectable					
Cebada variedad Perla						
Días	Dimensión fractal (pendiente)	Entropía	Área	Perímetro	Circunferencia	Redondez
S/G	2.35±0.07 ^a	0.46±0.11 ^d	5952.43±267.22 ^a	299.94±11.65 ^a	0.90±0.04 ^a	0.86±0.07 ^a
2	2.08±0.16 ^a	1.05±0.09 ^{cd}	5246.37±228.02 ^b	275.49±6.78 ^{ab}	0.82±0.05 ^a	0.80±0.06 ^{ab}
4	1.74±0.14 ^b	1.37±0.16 ^c	4404.72±319.73 ^c	247.30±14.20 ^{bc}	0.63±0.04 ^b	0.68±0.03 ^b
6	1.57±0.11 ^b	5.13±0.35 ^b	2755.24±233.90 ^d	224.79±16.48 ^{cd}	0.56±0.07 ^{bc}	0.50±0.06 ^c
8	1.16±0.11 ^c	7.57±0.62 ^a	1843.36±157.40 ^e	200.04±8.54 ^d	0.43±0.05 ^c	0.37±0.03 ^c

El término "fractal" es una forma geométrica áspera o fragmentada que puede subdividirse en partes, cada una de las cuales es (aproximadamente) una copia de tamaño reducido del conjunto (Shaarawi y Piegorsch, 2012). En el cual su valor cuantifica el grado de irregularidad del borde del objeto, de tal manera que la dimensión fractal de una línea recta es aproximadamente igual a 1; si dicha línea se vuelve sinuosa o rugosa (irregular), el valor será mayor a 1 (Yoshioka y col., 2007); el valor para la proporción de un plano que está ocupado por el objeto de interés será aproximadamente igual a 2, caso contrario cuando el objeto es un plano (irregular) ya que sus valores serán más pequeños debido a que es un plano incompleto (Lira, 2002).

Los valores obtenidos para dimensión fractal de los gránulos de almidón de los granos germinados de la variedad Esmeralda presentan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los días 4 y 6 de la germinación y el grano sin germinar. El grano sin germinar y el día 2 no tienen diferencias significativas ($p > 0.05$) al igual que el día 2 y 4. En cuanto a la variedad Perla, no existen diferencias significativas ($p > 0.05$) entre el grano sin germinar y el día 2. También el día 4 y 6 no presentan diferencias significativas ($p > 0.05$).

Se puede observar que los valores de dimensión fractal para ambas variedades de cebada disminuyen conforme avanza la germinación, indicando que los gránulos de almidón se hacen más irregulares y rugosos, comportamiento asociado a la pérdida de grado de cristalinidad dado que la dimensión fractal evalúa cuantitativamente la complejidad de la forma de las partículas (Kono y col., 2017).

Kono y col. (2017), evaluaron la dimensión fractal de los cristales de hielo de arroz cocido a diferentes temperaturas de congelación, demostrando que la pendiente incrementa conforme aumenta al grado de cristalinidad; caso contrario a lo reportado por Espinosa y col. (2012) para el grano de arroz, donde su dimensión fractal disminuye conforme avanza el tiempo de maduración del grano.

En cuanto a los valores de entropía, estos van en aumento con respecto al tiempo, es decir, existe un grado de desorden molecular mayor en el granulo de almidón mientras aumenta el tiempo de germinación del grano. Existiendo diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los días de germinación para la variedad Esmeralda. La variedad Perla no presenta diferencias significativas ($p > 0.05$) entre el grano sin germinar y el día 2, así mismo el día 2 y el día 4 no tienen diferencias significativas ($p > 0.05$).

Esmeralda presenta una entropía mayor, confirmando los resultados obtenidos mediante la observación de las micrografías, donde se observó que hubo una mayor hidrólisis de los gránulos de almidón, debido a que en el día 6 el almidón fue hidrolizado por completo. De igual forma se corrobora con los resultados del apartado de actividad enzimática (6.9.1. Actividad de amilasa y proteasa) ya que la variedad Esmeralda presentó una mayor actividad de amilasa.

Simultáneamente se obtuvo el promedio del área y perímetro de diferentes gránulos de almidón. La variedad Esmeralda y Perla presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en el área durante todos los días de la germinación, en base a el perímetro no existen diferencias significativas ($p > 0.05$) entre el grano sin germinar y el día 2, de igual manera para el día 2 y 4 para la variedad Esmeralda. La variedad Perla tiene diferencias significativas ($p < 0.05$) entre el grano sin germinar y el día 4, 6 y 8.

La variedad Esmeralda inicia (grano sin germinar) con valores de 6738.89 mm^2 y 319.91 mm para área y perímetro respectivamente, en cuanto a la variedad Perla inicia con valores de 5952.43 mm^2 y $2.99.94 \text{ mm}$. La diferencia entre los valores iniciales de las dos variedades de cebada se debe a la composición química de los granos de cebada que se va formando durante su desarrollo, ya que pudieron ser expuestos a diferentes cambios drásticos en la temperatura o en la humedad relativa ambiental (Umamoto y col., 1995; Cheng y col., 2005). Dichos valores que se ven afectados por la germinación, tendiendo a disminuir en ambas variedades de cebada, finalizando con 1493.15 mm^2 y 197.60 mm para Esmeralda al día 6 y para Perla 1843.36 mm^2 y 200.04 mm al día 8 de la germinación, esto debido a la hidrólisis que sufre el almidón por acción de las amilasas presentes durante el proceso bioquímico de germinación, encontrando ruptura y daño en la morfología de los gránulos de almidón como se observa en las micrografías obtenidas para ambas variedades de cebada (Figura 10 y 11).

La circunferencia y redondez son indicativos de la forma que tienen los gránulos de almidón. Si el valor de la circunferencia es aproximado a 1, el objeto es un esférica, si es mayor a 1 el objeto es una elipse; en la redondez, el objeto es circular cuando el valor es igual a 1 y cuando es menor a 1 pierde su circularidad (Espinosa y col., 2012). Los resultados de circunferencia para la variedad Esmeralda es de 0.81 mm en el grano sin germinar, finalizando con 0.42 mm al sexto día existiendo diferencias significativas ($P < 0.05$); la variedad Perla inicia con una circunferencia de 0.90 mm y finaliza con 0.43 mm al octavo día existiendo diferencias significativas ($P < 0.05$), siento la variedad Perla la que presenta gránulos de almidón con una forma más esférica al inicio. Esta característica mostró que hay una pérdida de esa forma esférica u ovalada que deben tener los gránulos de almidón de cebada con forme transcurren los días de germinación, a causa de la acción enzimática.

En cuanto a los resultados de redondez, ambas variedades de cebada presentan valores similares 0.85 mm y 0.86 mm para Esmeralda y Perla respectivamente en los granos sin germinar, de igual manera esta característica se va perdiendo durante la germinación.

La cebada Perla presentó valores más altos en cuanto a estas características, por lo que se deduce que su estructura es más compleja lo que retarda el ataque enzimático y el daño en su morfología es menor, justificando que al día 8 de la germinación aún no se ha hidrolizado por completo el almidón a diferencia de la variedad Esmeralda. Lo anterior nos confirma que la variedad Perla al ser sometida a un proceso de germinación afecta sus características de forma y tamaño, sin embargo al mismo tiempo mejoran sus propiedades fisicoquímicas de los gránulos de almidón.

En base a la literatura un análisis de imagen proporciona una evidencia directa para la caracterización de la estructura en un alimento, como fue en el caso de He y col. (2015) evaluando los cambios microestructurales en Tilapia en condiciones de congelación y Rahimi (2016) estudiando la estructura e irregularidades de la superficie de las pastas fritas.

Espinosa y col., 2012, mediante el análisis de imagen realizaron la caracterización morfoestructural de granos de arroz (*Oryza sativa L.*) de la variedad Morelos A-98 durante las etapas de llenado, observando que el endospermo tiene una tendencia a presentar un mayor nivel de organización estructural a través del relleno, aumentando su área y perímetro, la dimensión fractal muestra una disminución dado que el borde de este grano fue menos áspero.

6.4. Espectro infrarrojo

Después de analizar las micrografías anteriores y cambios en la estructura del gránulo de almidón durante la germinación, se realizó un análisis de espectros infrarrojos (IR) para observar los cambios que tienen los grupos funcionales del almidón.

En las Figura 16 y 17 se observan los espectros infrarrojos para los almidones germinados y sin germinar de ambas variedades de cebada en la región de 400-4000 cm^{-1} , destacando un comportamiento similar entre ellas. Los IR corresponden a la elongación (estiramiento) de

los principales grupos característicos de la molécula de almidón-lo que coincide con lo que señalan algunos autores (Xu et al., 2004; Mano et al., 2003; Guerra et al., 2008). Se observan señales en el intervalo de 900-1280 cm^{-1} , que corresponde al estiramiento del enlace C-O, las vibraciones por estiramiento o tensión (entre 3000-3900 cm^{-1}) y a las vibraciones por flexión ($\approx 1650 \text{ cm}^{-1}$) de los grupos -OH estiramiento del almidón, la banda de 2980 cm^{-1} corresponde al alargamiento del hidrógeno con respecto al enlace carbono característico de la presencia de un carbohidrato (Fang y col., 2002; Mano et al., 2003; Prieto y col., 2010). Los picos característicos a 2930 y 2852 cm^{-1} se atribuyeron a la vibración de la -CH asimétrica y el estiramiento de la -CH simétrica, respectivamente. También se observó la presencia de un pico a 2900 cm^{-1} atribuido a la vibración de estiramiento asimétrica C-H de C-6, que indica la existencia de doble hélice (Lian y col., 2012). Los picos adyacentes a 1450 cm^{-1} y 1380 cm^{-1} se deben a la vibración de ángulo C-H, el pico a 1652.92 cm^{-1} corresponde a la vibración de estiramiento de CO de C-1 (Gidley y col., 1995; Eerlingen y col., 1993), la vibración de estiramiento asimétrico C-O-C e hidroxilo se ubica en el pico a 1060 cm^{-1} y la vibración de estiramiento de CO del enlace β -glicosídico en el pico 880 cm^{-1} (Lian y col., 2012).

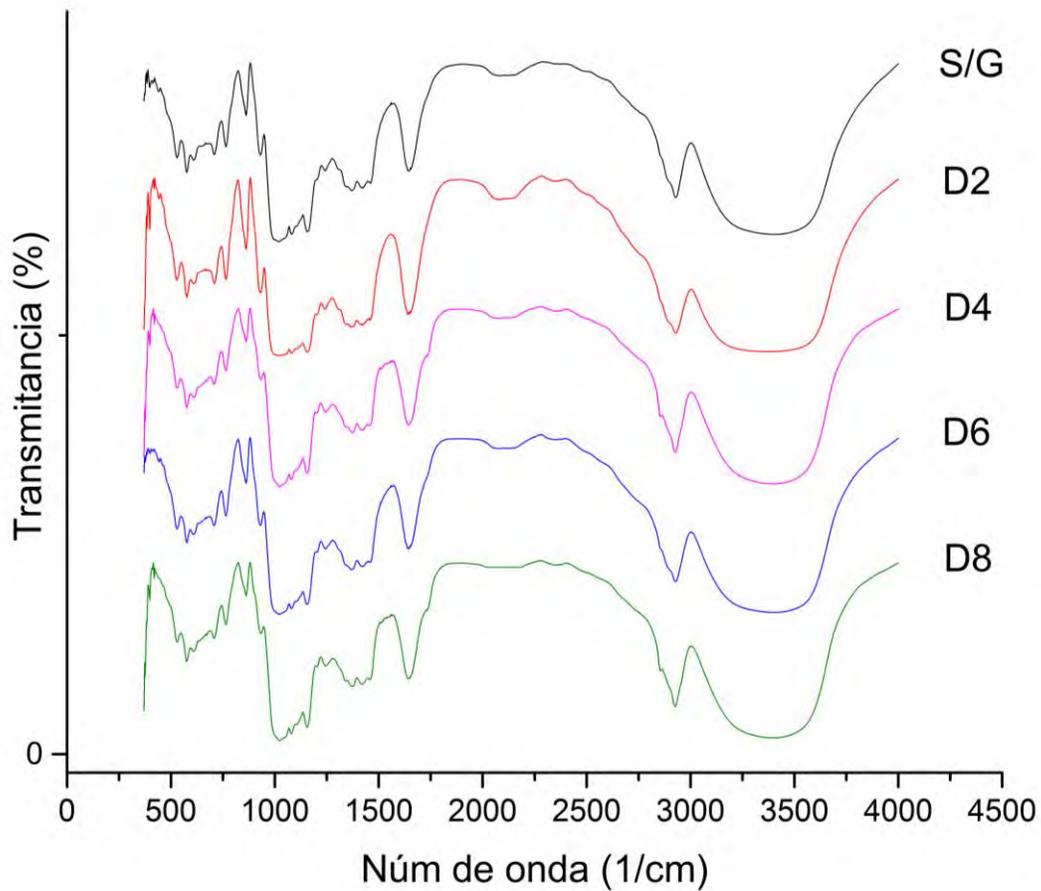


Figura 16. Espectros infrarrojos de cebada Esmeralda germinada y sin germinar.

Los resultados obtenidos en los IR fueron similares a lo reportado por Tarr y col. (2012) para malta de cebada. También You y col. (2016) estudiaron el impacto de la germinación en el almidón de arroz, reportando la disminución de la cristalinidad conforme transcurre la germinación en base a lo observado en bandas a 1047 cm^{-1} y 1022 cm^{-1} . Xu y col. (2012) informaron que los almidones de arroz germinado y nativo tenían un peso molecular promedio similar, es decir, no hubo cambios en su estructura.

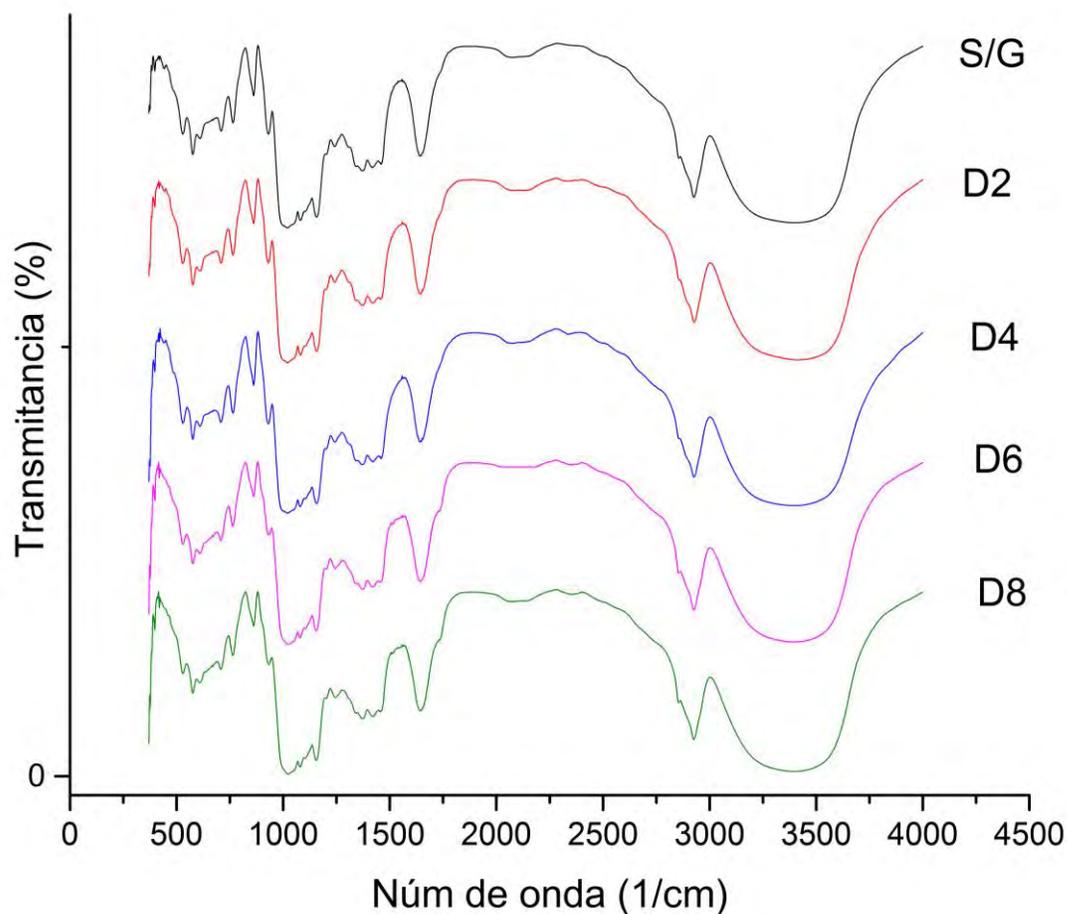


Figura 17. Espectros infrarrojos de cebada Perla germinada y sin germinar.

Los porcentajes de cristalinidad obtenidos mediante la técnica de rayos X (8.8. Cristalinidad) fueron similares a lo obtenido en los IR, ya que la región cristalina es la menos afectada durante la germinación.

6.5. Análisis rápido de viscosidad

Las propiedades de empastado se determinaron mediante un analizador rápido de viscosidad, en una solución acuosa de almidón con la agitación de una paleta durante un perfil de temperatura. En la Tabla 5 se presentan los datos obtenidos para el almidón extraído de los granos sin germinar y germinados para las variedades Esmeralda y Perla.

De acuerdo a Ingbian y Adegoke (2007), la viscosidad máxima indica la capacidad de retención de agua del almidón (hinchamiento) y la viscosidad mínima mide la capacidad del almidón de resistir la descomposición durante el enfriamiento.

Tabla 5. Efecto de un proceso de germinación sobre la viscosidad de gránulos de almidón de cebada germinada y sin germinar.

Variedad Esmeralda	Viscosidad máxima (cP)	Viscosidad mínima (cP)	Temperatura de empastado (°C)
S/G	2730.50±201.50 ^a	2630.50±101.50 ^a	95.33±0.20 ^a
Día 2	2338.50±23.50 ^b	2115.50±59.50 ^b	95.38±0.03 ^a
Día 4	1880.50±70.50 ^c	1331.50±50.50 ^c	95.20±0.10 ^a
Día 6	510.50±20.50 ^d	415.50±47.50 ^d	95.28±0.23 ^a
Día 8		No detectable	
Variedad Perla	Viscosidad máxima (cP)	Viscosidad mínima (cP)	Temperatura de empastado (°C)
S/G	3101.00±25.00 ^a	2813.00±60.00 ^a	95.43±0.02 ^a
Día 2	2443.00±48.00 ^b	1986.50±34.50 ^b	95.43±0.02 ^a
Día 4	1087.00±106.00 ^c	780.00±56.00 ^c	95.33±0.02 ^b
Día 6	715.00±70.00 ^d	415.00±20.00 ^e	95.29±0.03 ^b
Día 8	828.50±32.50 ^d	589.50±42.50 ^d	95.19±0.02 ^c

La Tabla 5, se aprecia que existen diferencias significativas ($p < 0.05$) en la viscosidad máxima y mínima entre cada día de germinación, con excepción del día 6 y 8 para la variedad Perla donde no existen diferencias significativas ($p > 0.05$). Conforme avanza el proceso de germinación la viscosidad va disminuyendo para ambas variedades de cebada. El contenido de almidón total disminuye por la hidrólisis enzimática de la amilasa y la hidrólisis de proteínas por la proteasa durante la germinación (Singh y col., 2009; Wu y col., 2013). La disminución de la viscosidad es un comportamiento característico del rompimiento de la estructura granular del almidón (Thomas y Atwell, 1999), de igual manera el valor de viscosidad se ve afectada por el contenido de almidón, la actividad amilasa, la relación amilosa/amilopectina, los contenidos de proteínas y lípidos (Wu y col., 2013), lo que podría justificar el aumento de la viscosidad máxima y mínima del día 6 al día 8 de la variedad Perla, debido una variación en la proporción de amilosa-amilopectina o al contenido de proteínas que aumenta con la acción de la proteasa.

Uthumporn y col. (2010) reportan que una disminución en la viscosidad se debe a la estructura porosa ya que hace más susceptibles a los gránulos de almidón para ser hidrolizados. La disminución de la viscosidad máxima con el aumento del tiempo de germinación puede atribuirse a la degradación del almidón o a la desramificación a unidades más simples durante el proceso de germinación (Ingbian y Adegoke, 2007). Zhu y col. (2010) reportaron que la presencia de la actividad de amilasa en los granos contribuye a la disminución de la viscosidad máxima. De ahí que la viscosidad del grano sin germinar de ambas variedades de cebada sea mayor que la viscosidad al día 2 de la germinación, ya que α -amilasa se encuentra inactiva en esa etapa. Quadir y col. (2012) y Xu y col. (2012) publicaron resultados similares para arroz Kashmiri y arroz integral respectivamente, nativo y germinado.

La temperatura de empastado da una indicación del tiempo de gelatinización durante el procesamiento. Es la temperatura a la que se mide el primer aumento detectable de la viscosidad y es el cambio inicial característico del hinchamiento del almidón (Emiola y Delarosa, 1981). En cuanto a los resultados obtenidos para la temperatura de empastado (Tabla 6), se aprecia que existe diferencias significativas conforme avanza el tiempo de germinación en la variedad Perla, al contrario de la variedad Esmeralda no existe diferencias significativas ($p < 0.05$).

La temperatura de empastado va disminuyendo, con un valor inicial de 95.43 °C y 95.33 °C para Perla y Esmeralda respectivamente, finalizando con 95.19 °C y 95.28 °C lo que indica la presencia de cadenas cortas con grado de polimerización (DP) < 10 ya que estas disminuyen la estabilidad de doble hélice en las moléculas de amilopectina, disminuyendo la temperatura de gelatinización (Singh y col., 2009). Una temperatura alta de empastado indica la presencia de almidón altamente resistente al hinchamiento (Chinma y col., 2015).

Tendencias similares se encontraron en la literatura, de acuerdo con Xu y col., (2012) y Wu y col. (2013) para arroz germinado, Chinma y col., (2015) reportaron una ligera disminución en la temperatura de empastado en la germinación de chufa variedad marrón y amarilla.

En base a los resultados anteriores, la variedad de cebada Perla germinada mostró un efecto más positivo en sus propiedades de viscosidad, ya que hubo una disminución menor en sus

valores al finalizar la germinación. Como se ha mencionado, este comportamiento se ve influenciado por la composición inicial del grano de cebada (contenido de almidón, lípidos, proteínas, entre otros), la proporción de amilosa/amilopectina y la actividad enzimática.

6.6. Propiedades térmicas

Los resultados del análisis de las propiedades térmicas del almidón de cebada para la variedad Esmeralda y Perla se muestran en la Tabla 6. En cuanto a la temperatura y entalpía de gelatinización para la variedad Esmeralda no existen diferencias significativas ($p > 0.05$) entre el grano sin germinar y el día 2 de la germinación; pero si existen diferencias significativas ($p < 0.05$) con los días 4 y 6, sin embargo no existen diferencias significativas ($p > 0.05$) entre el día 4 y 6 para la temperatura de gelatinización pero si existen diferencias ($p < 0.05$) en la entalpía. En la variedad Perla, existen diferencias significativas ($p < 0.05$) en la temperatura de gelatinización entre el día 2 y 4; en los valores obtenidos para la entalpía no existen diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los días 2, 4 y 6, pero si hay diferencias significativas ($p < 0.05$) con el grano sin germinar y el día 8 de la germinación.

Conforme avanzan los días de la germinación las temperaturas de gelatinización aumentan de 61.36 a 63.40 °C para Cebada Esmeralda y para Perla de 61.83 a 62.08 °C, dicho aumento se le puede atribuir al aumento en la actividad enzimática de α -amilasa y proteasa durante la germinación (Xu y col., 2017). Así mismo se ha reportado que ciertos azúcares elevan la temperatura de gelatinización del almidón, debido a que el contenido de azúcar aumenta significativamente durante la germinación (Zhang y col., 2013). También se ha reportado que la presencia de algunos aminoácidos e hidrolizados de proteínas pueden aumentar la temperatura de gelatinización del almidón (Xu y col., 2017). Prieto y col. (2009) reportan una temperatura de gelatinización para almidón de cebada superiores a 35 °C, con una máxima alrededor de los 75 °C, encontrándose que los resultados obtenidos en esta investigación están dentro del rango establecido.

Tabla 6. Efecto de un proceso de germinación sobre las propiedades térmicas de gránulos de almidón de cebada germinada y sin germinar.

Muestra Esmeralda	Temperatura de gelatinización (°C)	ΔH (J/G)
S/G	61.36±0.24 ^b	6.46±0.03 ^a
2	61.37±0.14 ^b	6.39±0.07 ^a
4	63.11±0.47 ^a	2.30±0.42 ^b
6	63.40±0.31 ^a	1.56±0.28 ^c
8	No detectable	

Muestra Perla	Temperatura de gelatinización (°C)	ΔH (J/G)
S/G	61.83±0.01 ^{ab}	7.93±0.54 ^a
2	61.73±0.12 ^b	6.58±0.19 ^b
4	62.55±0.50 ^a	6.52±0.02 ^b
6	62.22±0.25 ^{ab}	6.50±0.04 ^b
8	62.08±0.20 ^{ab}	4.96±0.34 ^c

En cuanto a la entalpía de gelatinización, se puede reportar como el grado de desorden de las dobles hélices en el almidón (región cristalina) (Liu et al., 2016). De acuerdo con los resultados de la Tabla 6, la entalpía de gelatinización disminuyó ligeramente, debido a que se necesita menos energía para gelatinizar los gránulos de almidón ya que gracias a la germinación se formaron poros en la superficie a causa de la actividad enzimática lo que facilita el hinchamiento de los gránulos de almidón (Uthumporn y col., 2010). Xu y col. (2017) reporta un comportamiento similar para semillas de Adlay germinadas.

6.7. Amilosa aparente

De acuerdo al contenido de amilosa, los almidones se pueden clasificar en diferentes grupos como son los almidones cerosos que contienen muy poca cantidad de amilosa, alrededor de 1 %, los normales contienen entre 18–30% de amilosa y los altos en amilosa que contienen 50 % o más de este polímero (Chehtel,1976).

En la Tabla 7, se expresan los valores obtenidos para el contenido de amilosa aparente en cebada variedad Esmeralda y Perla. En la muestra sin germinar el porcentaje de amilosa fue de 27.73% y 25.57% para variedad Perla y Esmeralda respectivamente, por lo que se consideran almidones de tipo normal ya que concuerdan con los valores establecidos por la literatura (Chehtel, 1976).

Durante la germinación el porcentaje de amilosa se incrementó, hasta el día 4 con un valor máximo de 29.28% y 27.61% para Perla y Esmeralda respectivamente. El aumento en el contenido de amilosa se atribuye al ascenso en la actividad enzimática que se está llevando a cabo durante la germinación, lo que permite el desdoblamiento de la amilopectina del almidón a unidades más pequeñas, mismas que interaccionan con el yodo. Jayakody y Hoover (2002) reportan que una hidrólisis rompe las cadenas de amilosa, así como los puntos de ramificación de la amilopectina (despolimerización) lo que permite su interacción.

Sin embargo, a partir del día 6 se muestra una disminución en el contenido de amilosa, debido a la absorción de los nutrientes por la radícula en crecimiento (Higgins y col., 1976), es por ello que para el día 8 de la germinación ya no se pudo determinar el contenido de amilosa para la variedad Esmeralda ya que los gránulos de almidón fueron hidrolizados por completo, como se pudo observar en las micrografías de electrónicas de barrido. A diferencia de la variedad Esmeralda, la variedad Perla aún presenta el 19.23% de amilosa y es estadísticamente diferente a las demás muestras ($p < 0.05$). Dichos resultados se corroboran con las micrografías descritas anteriormente, donde se observan algunos gránulos de almidón sin ser hidrolizados completamente, pero con una superficie rugosa. Castillo y col. (2012) reportaron un contenido de 36% para amilosa en cebada variedad Esmeralda, aunque sea la misma fuente botánica dicha diferencia se puede deber al año de cosecha, nutrientes y clima al que fue expuesto el grano antes de su cosecha.

Como se mencionó anteriormente, la actividad de las enzimas involucradas en la biosíntesis del almidón es responsable de la variación en el contenido de amilosa entre los diversos almidones, aunque sean de la misma especie (Krossmann y Lloyd, 2000). De igual forma la cuantificación de la amilosa se puede ver afectada por la interacción del complejo amilosa-lípidos, mismos que pudieron haberse aislado con el almidón (Hoover, 2001).

Tabla 7. Efecto de un proceso de germinación sobre el contenido de amilosa aparente en los gránulos de almidón germinados y sin germinar (%).

Muestra	Esmeralda	Perla
S/G	25.57±0.36 ^b	27.73±0.60 ^b
Día 2	26.89±0.24 ^{c^a}	28.56±0.24 ^{ab}
Día 4	27.61±0.24 ^a	29.28±0.24 ^a
Día 6	18.64±0.60 ^c	24.14±0.12 ^c
Día 8	No detectable	19.23±0.72 ^d

6.8. Cristalinidad

Diop, Li, Xie y Shi (2011), reportan que la cristalinidad de los almidones de cereales es atribuida a la formación de hélices dobles por enlaces de hidrógeno intermoleculares en la amilopectina. La cristalinidad relativa fue calculada a partir de los diagramas de difracción de rayos X de la cebada Esmeralda y cebada Perla, germinadas y sin germinar. Los patrones de difracción de rayos X (Figura 18) demuestran que todas las muestras de cebada presentan polimorfismo tipo A y C (Pérez y Bertoft, 2010; Sun y col., 2015).

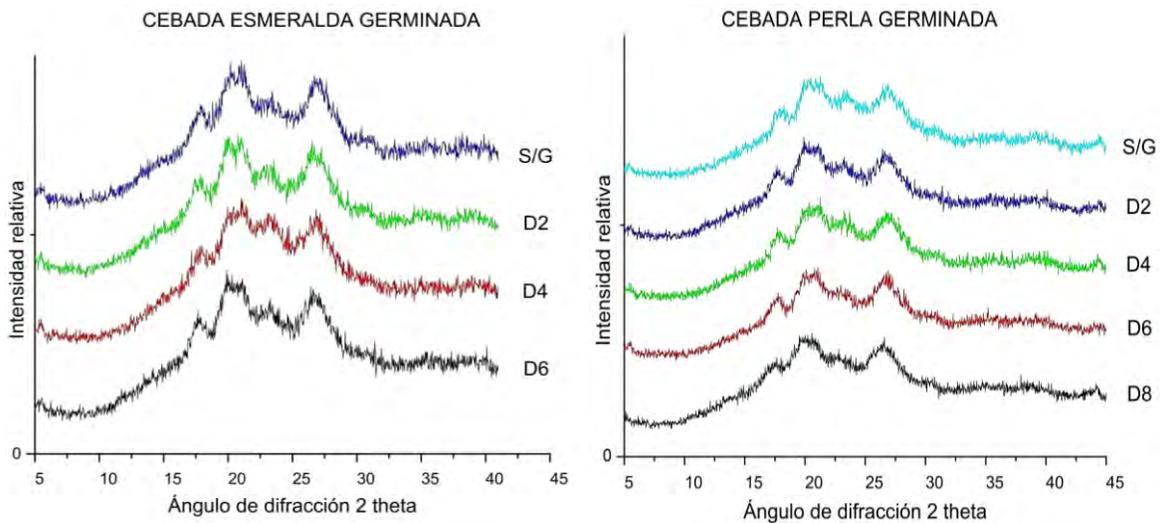


Figura 18. Patrones de difracción de rayos X de cebada germinada durante 8 días.
(Donde S/G=sin germinar, D1-8= días germinados)

La forma en que están empaquetadas las dobles hélices en la molécula de amilopectina y el contenido de agua son parámetros determinantes del tipo de polimorfismo. Las dobles hélices que presentan los cristales tipo A, están empaquetadas en forma monoclinica, mientras que los cristales tipo B, presentan dobles hélices arregladas en forma hexagonal. Los gránulos de almidón nativos exhiben dos tipos principales de diagrama el tipo A para almidones de cereales y el tipo B para tubérculos y almidones ricos en amilosa. Otro tipo de diagrama de difracción es el C, el cual se muestra como una mezcla de diagramas A y B (legumbres) (Figura 19) (Hermansson y Svegmarm 1996).

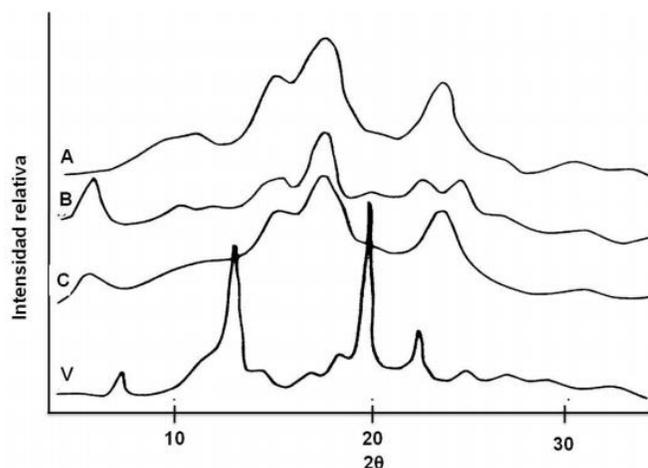


Figura 19. Patrones de difracción de rayos X para diferentes almidones.
(A=cereales, B=tubérculos, C=semillas y V=complejo de amilosa-ácido graso)

Fuente: Hizukuri, 1986

Como se ha mencionado, los gránulos de almidón son una mezcla de amilosa y amilopectina, por lo tanto, las variaciones en la proporción de estos polisacáridos y sus propiedades e interacciones con otros componentes (Hermansson y Svegmarm 1996), una mayor proporción de amilopectina en los gránulos de almidón produce una mayor cristalinidad (Cheetham y Tao, 1998).

La cristalinidad relativa (Tabla 8) para el almidón extraído de cebada Esmeralda no presenta diferencia significativa con la germinación ($p > 0.05$). El almidón de la cebada Perla, sólo presentó diferencias significativas ($p < 0.05$) entre el grano sin germinar y el día 6, en este último día presentó el menor porcentaje de cristalinidad, sin embargo, se observa una disminución en el porcentaje de cristalinidad iniciando con 24.70% y al día 8 de germinación finaliza con 22.71%.

Tabla 8. Resultado de la germinación sobre la cristalinidad relativa de los gránulos de almidón germinados y sin germinar (%).

Día	Esmeralda	Perla
S/G	22.67±0.57 ^a	24.70±0.64 ^a
2	22.24±0.57 ^a	23.86±0.18 ^{ab}
4	22.10±0.37 ^a	23.29±0.34 ^b
6	21.87±0.54 ^a	22.71±0.49 ^b
8	No detectable	23.60±0.67 ^{ab}

La diferencia en la cristalinidad relativa puede atribuirse a la diferencia en las cadenas de ramificaciones de la amilopectina (Cheetham y Tao, 1998). Kuakpetoon y Wang (2006), le atribuyen una disminución en la cristalinidad relativa a la degradación de la región cristalina. Kalita y col. (2017) sugirieron que las enzimas activadas durante la germinación causaron un daño rápido a la amilosa y amilopectina, disminuyendo la cristalinidad relativa del almidón. Cheetham y Tao (1998) reportan que la cristalinidad relativa está relacionada directamente con la amilopectina, de acuerdo a Gidley y Bulpin (1987) una mayor proporción de cadenas cortas de amilopectina (DP <10) causa una disminución en la estabilidad de las hélices dobles. You y col. (2016) declaran que una cadena de amilopectina (ramificadas) larga genera una cristalinidad relativa mayor. De acuerdo a lo anterior, se puede atribuir la disminución de la cristalinidad relativa a la presencia de cadenas ramificadas más cortas y a una mayor proporción de éstas.

Existe una relación con los diagramas de difracción de rayos X y los espectros infrarrojo, como se mencionó en el apartado de IR (8.4. Espectro infrarrojo), donde la intensidad de las bandas 1047 cm⁻¹ y 1022 cm⁻¹ expresa la relación de regiones cristalinas y amorfas cercas de la superficie del gránulo de almidón (Van Soest y col., 1995), comprobando la disminución de estas bandas con la disminución de la cristalinidad relativa durante el proceso de germinación.

6.9. Propiedades funcionales

Los resultados siguientes fueron realizados con la harina de grano de cebada sin germinar y germinados.

6.9.1. Actividad de amilasa y proteasa

Durante la germinación, se producen enzimas como amilasas y maltasas que hidrolizan el endospermo amiláceo a glucosa. Las proteínas de reserva son hidrolizadas a aminoácidos por proteinasas. Estas enzimas son producidas en la capa de aleurona que rodea al endospermo para proporcionar energía al embrión (Courtis, 2013).

Tabla 9. Efecto de un proceso de germinación sobre la actividad de amilasa y proteasa en harina de cebada germinada y sin germinar (%).

Muestra	Esmeralda		Perla	
	Amilasa	Proteasa	Amilasa	Proteasa
S/G	No detectable	0.80±0.12 ^f	2.95±0.15 ^f	1.68±0.27 ^f
Día 1	2.10±0.02 ^f	1.11±0.03 ^{ef}	3.56±0.02 ^f	1.83±0.07 ^f
Día 2	5.30±0.26 ^e	1.17±0.07 ^{ef}	7.13±0.15 ^{bc}	2.03±0.22 ^f
Día 3	7.68±0.18 ^c	1.34±0.02 ^{de}	7.86±0.73 ^{ab}	2.65±0.24 ^e
Día 4	6.81±0.17 ^d	2.79±0.21 ^c	6.42±0.09 ^{cd}	3.23±0.20 ^{de}
Día 5	8.43±0.01 ^b	3.06±0.28 ^{bc}	8.08±0.08 ^a	3.86±0.23 ^c
Día 6	9.59±0.25 ^a	3.52±0.14 ^{ab}	5.36±0.16 ^c	4.57±0.05 ^b
Día 7	7.86±0.12 ^c	3.81±0.21 ^a	6.31±0.11 ^d	5.21±0.35 ^a
Día 8	6.87±0.25 ^d	1.77±0.26 ^d	5.91±0.12 ^{de}	3.47±0.13 ^{cd}

En la Tabla 9, se presentan los resultados de la actividad enzimática de la harina del grano sin germinar y germinada durante los 8 días de la cebada Esmeralda y Perla. La variedad Esmeralda no presentó actividad de amilasa en la harina del grano sin germinar el día 1 presentó un valor de 2.10±0.02% significativamente diferente ($p < 0.05$) a los demás. Posteriormente se incrementó la actividad de la enzima hasta el día 3 existiendo diferencias significativas con el día 1 ($p < 0.05$), para el 4to día esta disminuye a 6.81±0.17% mismo

comportamiento que se presentó en la variedad Perla. Los días posteriores volvieron a aumentar hasta el día 7, en el día 8 de germinación la actividad disminuyó. Al contrario de la variedad Perla la cantidad de poros fue mayor al día 3, concordando con el aumento en la actividad de amilasa, también el valor máximo se presentó en el día 6 con $9.59\pm 0.25\%$ lo que explica que al día 7, el almidón se encuentra hidrolizado casi en su totalidad, como se mencionó en la caracterización morfológica de los gránulos de almidón para la variedad Esmeralda (Claver y col., 2010; Jensen y Heltved, 1982).

Los resultados obtenidos para la cebada Perla indican que la actividad de amilasa presenta un aumento al día 1 ($3.56\pm 0.02\%$) con respecto al valor de la harina del grano sin germinar ($2.95\pm 0.15\%$) debido a la activación de las enzimas que provocó el remojo del grano, la germinación siguió aumentando la actividad de la amilasa hasta el día 3 existiendo diferencias significativas con la harina sin germinar ($p < 0.05$). La actividad de la amilasa para el 4to día disminuyó, presentó diferencias significativas ($p < 0.05$) con el día 3, dicho comportamiento se atribuye a alguna variación en el contenido de humedad y temperatura durante la germinación que afecte la producción de amilasas, así como la disponibilidad del sustrato. Para los días posteriores el mismo comportamiento continuo, con un valor máximo de $8.08\pm 0.08\%$ en el día 5, lo que genera una mayor cantidad de poros en la superficie del gránulo de almidón mismo que se corroboran en las micrografías obtenidas en el día 5 para la variedad Perla. Finalizando con una actividad de amilasa de $5.91\pm 0.12\%$. En base a los resultados de la actividad de proteasa de la cebada Perla, esta tiene una tendencia a aumentar conforme avanza la germinación hasta el día 8 cuando disminuye existiendo diferencias significativas entre el valor inicial y el final, iniciando con un valor de $1.68\pm 0.27\%$ (harina sin germinar) y finalizando con $3.47\pm 0.13\%$.

El comportamiento de la actividad de amilasa concuerda con lo reportado por Elkhalfa y Bernhardt (2010) durante la germinación de sorgo. Velupillai y col. (2009) observaron que la actividad de la amilasa en la harina de arroz cruda es muy baja y aumenta significativamente durante la germinación del arroz integral hasta 5 días. La actividad enzimática está relacionada directamente con la hidrólisis del almidón que se ve reflejado en los resultados de caracterización morfológica del almidón (Microscopía electrónica de barrido) y el contenido de amilosa aparente.

La relación amilosa:amilopectina en el almidón no solo afecta sus características químicas y físicas, sino también la hidrólisis enzimática desarrollada durante las etapas de germinación (Saman y col, 2008). La amilosa consiste en cadenas sin marca de poli-[(1- 4) - α -D-glucopiranosas] y está fuertemente asociada con muchas sustancias polares, incluidos algunos lípidos, para formar complejos cristalinos. En la amilopectina, las cadenas con enlaces α - (1-4) están ampliamente ramificadas a través de enlaces α -(1-6) y la macromolécula tiene una estructura ramificada (Briggs y col., 1981).

En cuanto a los resultados de la actividad de proteasa se aprecian en ambas variedades de cebada van en aumento conforme transcurre los días de germinación hasta el día 8 cuando disminuye. La cebada Esmeralda presentó una actividad de $0.80 \pm 0.12\%$ en la harina sin germinar y al 7mo día de $3.81 \pm 0.21\%$. La cebada Perla presentó un valor de $1.68 \pm 0.27\%$ (sin germinar), al 7mo día presentó la máxima actividad con un valor de $5.21 \pm 0.35\%$. La germinación desencadena el sistema enzimático de semillas germinadas, que conduce a la descomposición de proteínas, carbohidratos y lípidos en formas más simples (Correia y col., 2008). Con base a lo observado en las micrografías electrónicas de barrido, se corrobora el aumento en la actividad de proteasa con el desprendimiento de los gránulos de almidón a causa de la hidrólisis de la matriz proteica en la que están embebidos.

Arisen (1982) y Garg y Virupaksha (1970), reportaron que la actividad proteolítica aumenta con el tiempo de germinación, disminuyendo después de alcanzar su valor máximo. De acuerdo a Elmoneim y col. (2010), reportaron que actividades proteolíticas y de amilasa del extracto de la harina de sorgo germinado aumentaron conforme al tiempo de germinación.

La germinación desencadena el sistema enzimático de semillas germinadas, que conduce a la descomposición de proteínas, carbohidratos y lípidos en formas más simples. Como resultado, las muestras de malta contienen azúcares libres y aminoácidos liberados durante la germinación (Correia y col., 2008).

6.9.2. Absorción de agua y aceite

Los resultados expresados en la Tabla 10 corresponden a la capacidad de absorción de agua y aceite por el almidón de cebada Esmeralda y Perla.

El índice de absorción de agua mide el volumen ocupado por el almidón después del hinchamiento en el exceso de agua, que corresponde al volumen del gel formado (Mason y Hosney, 1986; Ijarotimi y Keshinro, 2012). Este depende de la disponibilidad de grupos hidrófilos y de la capacidad de formación de gel de la macromolécula (Gomez y Aguilera, 1983).

Los resultados obtenidos para la capacidad de absorción de agua para ambas variedades de cebada muestran un aumento conforme avanza la germinación. La cebada Esmeralda tiene un valor inicial (harina sin germinar) de $17.39 \pm 0.07\%$, un valor máximo al 5to día de $22.84 \pm 0.97\%$ y un valor mínimo de $11.57 \pm 0.46\%$ existiendo diferencias significativas entre estos días ($p < 0.05$). De la misma forma la variedad Perla presenta un valor inicial (harina sin germinar) de $14.83 \pm 0.44\%$, un valor máximo al día 5 de $19.25 \pm 0.45\%$ y un valor mínimo de $14.56 \pm 0.06\%$ existiendo diferencias significativas ($p < 0.05$).

Un aumento de la capacidad de absorción de agua en la germinación podría atribuirse a un aumento en el contenido de proteínas y al cambio en la calidad de la proteína tras la germinación y también a la descomposición de las moléculas de polisacárido; Por lo tanto, los sitios para la interacción con el agua y la retención de agua se incrementarán (Elmoneim y col., 2010).

Las propiedades de hidratación están relacionadas con el daño del almidón, el contenido de proteínas, el tamaño de las partículas y las posibles interacciones entre los componentes del almidón y no almidón (de la Hera, Gomez y Rosell, 2013).

Elmoneim y col. (2010) reportó que la germinación aumentó significativamente ($P < 0.05$) la capacidad de absorción de agua de la harina de sorgo y el tercer día de germinación tuvieron el valor máximo. Otros estudios también informan que las capacidades de absorción de agua de la harina de caupí mejoran con la germinación (Ghavidel y Prakash, 2006).

Tabla 10. Efecto de un proceso de germinación sobre la capacidad de absorción de agua y aceite de harinas de cebada germinada y sin germinar (%).

Muestra	Esmeralda		Perla	
	Agua	Aceite	Agua	Aceite
S/G	17.39±0.07 ^c	30.66±0.22 ^e	14.83±0.44 ^{cd}	31.16±0.92 ^d
Día 1	20.08±0.88 ^b	32.12±0.23 ^d	15.91±0.0 ^{bc}	31.88±0.72 ^d
Día 2	21.52±0.88 ^{ab}	36.43±0.19 ^b	16.98±0.44 ^{bc}	33.34±0.0 ^c
Día 3	22.40±0.0 ^a	36.95±0.19 ^b	17.23±0.81 ^{bc}	34.30±0.48 ^c
Día 4	22.93±0.88 ^a	36.76±0.0 ^b	18.94±0.0 ^a	36.76±0.0 ^b
Día 5	22.84±0.97 ^a	38.52±0.29 ^a	19.25±0.45 ^a	39.42±0.29 ^a
Día 6	14.34±0.05 ^d	33.33±0.0 ^c	14.29±0.86 ^d	33.58±0.25 ^c
Día 7	11.57±0.46 ^e	30.15±0.74 ^e	14.67±0.60 ^{cd}	30.66±0.22 ^{d^e}
Día 8	No detectable		14.56±0.06 ^{cd}	29.71±0.72 ^e

La capacidad de absorción de aceite mide el atrapamiento físico del aceite por la atracción capilar y las cadenas laterales de proteínas no polares por los lípidos. Dado que la unión del aceite depende de la disponibilidad en la superficie de los aminoácidos hidrófobos (Sosulski y col., 1976), la mejora en la capacidad de absorción de aceite de las muestras germinadas podría atribuirse a un aumento en la disponibilidad de estos aminoácidos.

Los resultados obtenidos para la capacidad de absorción de aceite mostrados en la Tabla 10, se observa que hay un aumento en la capacidad de absorción de aceite conforme transcurre la germinación para ambas variedades de cebada. La variedad Esmeralda, tiende un valor máximo de 38.52±0.29% al día 5 y un valor mínimo de 30.15±0.74% al día 8 existiendo diferencias significativas entre estos días de germinación ($p < 0.05$), sin embargo, no existen diferencias significativas ($p > 0.05$) entre el valor mínimo y el valor de la harina del grano sin germinar (30.66±0.22%). La cebada Perla muestra un valor máximo 39.42±0.29% al día 5 y un valor mínimo de 29.71±0.72% existiendo diferencias significativas ($p < 0.05$). Ambas variedades de cebada presentan el mismo comportamiento incrementando conforme

avanzaba la germinación (días) para después decrecer una vez que alcanzaron su valor máximo.

Dichos resultados están relacionados con la actividad enzimática, ya que a esos días es cuando se registra el valor máximo en cuanto a la actividad enzimática de la amilasa lo que permite que haya mayor interacción con el agua. En cuanto a los resultados de absorción de aceite, el valor máximo observado al día 5 para ambas variedades, se debe a que la actividad enzimática de la proteasa va en aumento lo que permite la liberación de aminoácidos, mismos que están siendo absorbidos por la radícula en crecimiento y por lo tanto hace que el porcentaje de absorción de aceite disminuya a partir del día 6 (Courtis, 2013). La unión del aceite depende de la disponibilidad superficial de aminoácidos hidrofóbicos (Sosulski, Humbert, Bui y Jones, 1976), de ahí que la mejora en las capacidades de absorción de aceite en almidón germinado podría atribuirse a un aumento en la disponibilidad de estos aminoácidos al desenmascarar los residuos no polares de las moléculas proteicas interiores (Kinsella, 1976). Durante la germinación, se genera desnaturalización de la molécula de proteína, lo que da como resultado una mayor disponibilidad en la superficie de las proteínas lipófilas y estos aminoácidos hidrófobos se unen a las cadenas laterales de hidrocarburo del aceite y, por lo tanto, mejoran las harinas de capacidad de absorción de aceite preparadas a partir de granos germinados (Elkhalifa y Bernhardt, 2010)

Elmoneim y col. (2010) reportó que la germinación aumentó significativamente ($P < 0.05$) la capacidad de absorción de aceite de la harina de sorgo. De acuerdo a lo reportado en la literatura por Chinma y col. (2009), Elkhalifa y Bernhardt (2010) y Chinma y col. (2015) también muestra que la capacidad de absorción de aceite de la harina de granos germinados fue mayor en comparación con la harina nativa y aumentó progresivamente a medida que avanzaba el tiempo de germinación.

El índice de solubilidad en agua y la absorción de aceite exhibieron un patrón similar, con una relación positiva con el tamaño de partícula de las harinas (Lee y col., 2018).

6.9.3. Capacidad emulsionante y de espuma

En la Tabla 11 se muestran los resultados obtenidos para la actividad de espuma y emulsión de las harinas germinadas. Una emulsión es considerada como un sistema que está formado por dos fases líquidas inmiscibles (Muñoz y col., 2007). Los resultados de actividad y estabilidad de emulsión aumentaron con la germinación para ambas variedades de cebada, la harina germinada de la variedad Esmeralda, al día 4 presenta un valor mayor (31.95%) al inicial (27.88%) de actividad emulsionante y con una estabilidad de 67.01%. También se observó la misma tendencia para la variedad Perla muestra actividad emulsionante inicial de 27.73% y una máxima de 34.35% al día 4 de germinación con una estabilidad mayor de 65.65% presentando diferencias significativas ($p < 0.05$).

Dicho comportamiento es similar a lo reportado por Chinma y col. (2009) en harina de chufa, Elkhalfa y Bernhardt (2010) y Singh y col. (2017) en harina de sorgo. De acuerdo a la literatura la actividad y estabilidad de la emulsión aumentan a medida que aumentan el tiempo de germinación debido a la alta interacción entre proteína y grasa debido al despliegue de las cadenas polipeptídicas que exponen sitios hidrofóbicos de las proteínas, mismos que son accesibles para unirse a gotitas de lípidos mejorando las propiedades emulsionantes de la harina (Singh y col., 2017).

El aumento en la estabilidad de la emulsión se le atribuye a la conversión de las proteínas oligoméricas a proteínas simples o a la síntesis de nuevas proteínas durante la germinación que pueden aumentar las proteínas solubles. Las proteínas solubles son más activas en la superficie y se sabe que promueven la emulsión de aceite y agua (Subba Rao y Srinivasan, 1988), generando una mejor estabilidad en la emulsión (Singh y Sharma, 2017).

Tabla 11. Efecto de un proceso de germinación sobre la capacidad de emulsión y espuma de harina de cebada germinada y sin germinar.

Esmeralda				
Muestra	Emulsión		Espuma	
	Actividad	Estabilidad	Capacidad	Estabilidad
S/G	27.88±0.43 ^b	38.48±0.74 ^f	4.00±0.00 ^{cd}	
1	28.15±0.15 ^b	45.64±0.36 ^c	4.10±0.10 ^{cd}	No detectable
2	28.99±0.42 ^b	47.00±0.06 ^d	4.50±0.50 ^{bc}	
3	29.05±0.48 ^b	47.09±0.15 ^d	4.90±0.10 ^b	20.42±0.42 ^b
4	31.95±0.70 ^a	67.01±0.34 ^a	6.00±0.00 ^a	33.33±0.00 ^a
5	31.66±0.54 ^a	62.31±0.07 ^b	4.95±0.05 ^b	20.20±0.20 ^b
6	30.69±0.69 ^a	54.45±0.45 ^c	3.50±0.50 ^{de}	No detectable
7	25.85±0.36 ^c	28.82±0.59 ^g	3.00±0.00 ^e	
8	No detectable			

Perla				
Muestra	Emulsión		Espuma	
	Actividad	Estabilidad	Capacidad	Estabilidad
S/G	27.73±0.27 ^g	43.57±0.43 ^h	3.00±0.00 ^h	*
1	28.29±0.29 ^{fg}	45.45±0.55 ^g	4.00±0.00 ^g	25.00±0.00 ^f
2	29.71±0.29 ^{de}	48.51±0.51 ^f	7.50±0.50 ^d	49.29±0.71 ^d
3	30.31±0.31 ^d	50.51±0.51 ^e	8.50±0.50 ^{bc}	66.46±0.21 ^b
4	34.35±0.35 ^a	65.65±0.35 ^a	10.00±0.00 ^a	79.50±0.50 ^a
5	33.05±0.35 ^b	62.01±0.47 ^b	9.00±0.00 ^b	66.11±0.56 ^b
6	31.69±0.31 ^c	57.43±0.57 ^c	8.00±0.00 ^{cd}	62.50±0.00 ^c
7	29.13±0.28 ^{ef}	53.39±0.45 ^d	6.50±0.50 ^e	33.81±0.48 ^e
8	25.25±0.25 ^h	48.55±0.47 ^f	5.50±0.50 ^f	*

Las harinas germinadas de las 2 variedades de cebada muestran un aumento en la capacidad de formación de espuma al transcurrir el tiempo de germinación, la capacidad de formación de espuma en la variedad Perla aumenta de 3% (valor inicial) a 10%, con un porcentaje de estabilidad de 79.59% en el día 4 existiendo diferencias significativas ($p < 0.05$) entre estos días de germinación, posteriormente tienden a disminuir a causa de la asimilación de nutrientes llevada a cabo por el embrión de los granos germinados (Courtis, 2013). La falta de estabilidad de espuma en la muestra sin germinar en ambas variedades de cebada se debe a que las proteínas necesarias para formar espumas estables no están disponibles, debido a que están unidas a la matriz proteica (Elkhalifa y Bernhardt, 2010). La variedad Esmeralda presenta un porcentaje de formación de espuma menor al de la variedad Perla, teniendo un

máximo al día 4 de 6% con una estabilidad de 33.33%, sin embargo es el único día que presenta estabilidad de espuma a causa de que no cuenta con el contenido de proteínas necesarias; este comportamiento se le atribuye a la actividad enzimática de las proteasas, como se observa en la Tabla 9 (Actividad de amilasa y proteasa) la variedad Esmeralda presenta una menor actividad de proteasa a comparación de la variedad Perla justificando los resultados obtenidos para la estabilidad de espuma de ambas variedades. De acuerdo con Elkhalfa y Bernhardt, (2010) y Singh y col. (2017), durante la germinación se lleva a cabo una desnaturalización de la proteína y el área superficial de proteína soluble aumenta mientras que la tensión superficial de la interfaz aire y agua se reduce, mejorando la incorporación de moléculas de proteínas más solubles permitiendo interacciones más hidrofóbicas, afectando favorablemente la capacidad de formación de espuma. Sin embargo, los cambios conformacionales que tienen lugar durante la germinación de las proteínas pueden tener un efecto sobre la estabilidad de la espuma de los almidones de los cereales (Elkhalfa y Bernhardt, 2010).

Las propiedades de espuma y emulsión están relacionadas con la actividad enzimática presente en la germinación, ya que mediante la acción de las proteasas se desdoblan las proteínas complejas a proteínas más simples para poder ser absorbidos por la plántula en crecimiento, afectando negativamente a estas propiedades (Courtis, 2013; Elkhalfa y Bernhardt, 2010).

En base a los resultados anteriores, la cebada variedad Perla es la que presenta una mejor capacidad y estabilidad de formación de espuma y emulsionante.

VII. CONCLUSIONES

Los granos de cebada durante la germinación presentaron cambios morfológicos como porosidad, pérdida de forma y tamaño; la variedad Esmeralda mostró mayor porosidad en los gránulos de almidón en menor tiempo de germinación, de igual manera el grado de desorden es mayor en comparación con la variedad Perla.

No se observaron cambios en los grupos funcionales para ambas variedades de cebada. Los almidones germinados de ambas variedades de cebada mostraron disminución en las propiedades de viscosidad. Las propiedades térmicas de los gránulos de almidón se ven favorecidas por el proceso de germinación. De igual manera se incrementa el contenido de amilosa aparente al cuarto día del proceso de germinación, la cristalinidad no se vio afectada significativamente para ambas variedades de cebada.

La germinación permitió un aumento en la actividad enzimática causando cambios morfológicos en los gránulos de almidón, las propiedades funcionales se ven favorecidas al quinto día de la germinación para ambas variedades de cebada.

Un proceso de germinación en granos de cebada favorece las propiedades fisicoquímicas y funcionales de los gránulos de almidón, aumentando sus aplicaciones en la industria.

VIII. REFERENCIAS

- Achinewhu, S. C. (1983). Protein and food potential of African oil bean (*Pentaclethra macrophylla*) and velvet bean (*Mucunaauries*). *Journal of Food Science*, 47, 1736–1742.
- Adkins, G. K., Greenwood, C. T. (1966). The isolation of cereal starches in the laboratory. *Starch/Stärke*. 7: 213-218.
- Alcázar y Meireles, (2015). Physicochemical properties, modifications and applications of starches from different botanical sources. *Food Sci. Technol, Campinas*, 35(2): 215-236,
- Ambigaipalan, P., Hoover, R., Donner, E., Liu, Q., Jaiswal, S., Chibbar, R., Nantanga, K. K. M., & Seetharaman, K. (2011). Structure of faba bean, black bean and pinto bean starches at different levels of granule organization and their physicochemical properties. *Food Research International*, 44(9), 2962-2974. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.07.006>.
- Arisen, A. O. (1982). Enzymatic modification of sorghum endosperm during seedling growth and malting. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 33, 754–759.
- Ariztizábal, J., Moreno, F. Y BASTO, G. (2007). Estudio de una nueva técnica e implementación de una línea piloto de proceso para la obtención de dextrinas a partir de almidón de yuca. *Revista de Ingeniería e Investigación*, 27 (2), Pp. 26- 33.
- Atwell, W. A., Hood, L., Lineback, D., Varriano-Marston, E., & Zohel, H. (1988). The terminology and methodology associated with basic starch phenomenon. *Cereal Foods World*, 33, 306–311.
- Atwell, W. A., Hood, L., Lineback, D., Varriano-Marston, E., Zohel, H. (1988). The terminology and methodology associated with basic starch phenomenon. *Cereal Foods World*, 33, 306–311.
- Badenhuizen, N. P. (1969). *The biogenesis of starch granules in higher plants*. New York: Appleton Crofts.
- BeMiller, J. N., & Whistler, R. L. (2009). *Starch: chemistry and technology*. Oxford: Academic Press.

Bemiller, J.N., Paschall, E. F., Whistler, R. L. (1984). *STARCH: Chemistry and Technology*. 2nd ed. San Diego: Academic Press. Pp. 432-456.

Bernal, L., Martínez, B. E. (2006). Una nueva visión de la degradación del almidón. *Rev. Del Centro de Inv. Uni. La Salle*. 7 (25): 77-90.

Bernal, L., Martínez, B. E. (2006). Una nueva visión de la degradación del almidón. *Revista del centro de investigación Universidad La Salle*. 7(25):77-90.

Bernfeld, P. (1955). Enzymes of carbohydrate metabolism: Amylases alpha and beta. In S. P. Colowish & N. O. Kaplan (Eds.). *Methods in enzymology* (Vol. 1, pp. 146–158). New York: Academic Press.

Berski, W., Ptaszek, A., Ptaszek, P., Ziobro, R., Kowalski, G., Grzesik, M., y Achremowicz, B. (2011). Pasting and rheological properties of oat starch and its derivatives. *Carbohydrate Polymers*. 83(2), 665- 671.<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.08.036>

Bewley JD. (2000). Regulation of mobilization of endosperm cell walls. *Trends Plant Sci* 2:464–469

Biliaderis, C. G., Lazaridou, A., & Arvanitoyannis, I. (1999). Glass transition and physical properties of -plasticized pullulan-starch blends at low moisture. *Carbohydrate Polymers*, 40(1), 29-47. [http://dx.doi.org/10.1016/S0144-8617\(99\)00026-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0144-8617(99)00026-0).

Biliaderis, C.G. (1998). Structures and phase transitions of starch polymers. In: Walter, R.H., (Ed.), *Polysaccharide Association Structures in Foods*, Marcel Dekker, New York, pp. 57–168.

Blennow A, Engelsen SB, Nielsen TH, Baunsgaard L, Mikkelsen R. (2002.). “Starch Phosphorylation: New Front Line in Starch Research”. *Trends Plant Sci.*, vol. 7, núm. 10, pp. 445-450.

Borén, M., Larsson, H., Falk, A., Jansson, C. (2004). The barley starch granule proteome-internalized granule polypeptides of the mature endosperm. *Plant Science*. 166: 617-626.

Briggs DE, Hough JS, Stevens R, Young TW. (1981). Malt and sweet wort. editors. Malting and brewing science, Vol. I London: Chapman and Hall;. p.390.

Buléon, A., Colonna, P., Planchot, V., Ball, S. (1998). Starch granules: structure and biosynthesis. *International Journal of Biological Macromolecules* 23, 85–112.

Callejo, G. M. J. (2002). Maltería en: *Industria de cereales y derivados*. Mundiprensa 1ra edición. Madrid, España. PP. 169-185.

Campos, C. A., Gerschenson, L. N., Y Flores, S. K. (2011). Development of edible films and coatings with antimicrobial activity. *Food and Bioprocess Technology*, 4(6), 849-875. <http://dx.doi.org/10.1007/s11947-010-0434-1>.

Cantellano J. G., Rodríguez M. M. L, Román G.A. D, Guzmán O. F. A. (2016). Evaluación de las propiedades fisicoquímicas de almidones de diferentes cereales. *Revistas y Boletines Científicos, PÁDI*. Vol. 3.

Castillo O. F., Rodríguez S. R., Prieto G. F., Román G. A. D., Caracterización Física y Química Proximal de Paja, Grano y Almidón de Cebada de la Variedad Esmeralda. *BioTecnología*, Año 2012, Vol. 16 No. 3.

Cheetham, N. W. H., & Tao, L. (1998). Variation in crystalline type with amylose content in maize starch granules: an X-ray powder diffraction study. *Carbohydrate Polymers*, 36(4), 277-284. [http:// dx.doi.org/10.1016/S0144-8617\(98\)00007-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0144-8617(98)00007-1).

Cheetham, N.W.H. , Tao, L. (1998). *Carbohydr. Polym.* 36: 277–284.

Cheetham, N.W.H.,Tao, L. (1998) .Variation in crystalline type with amylose content in maize starch granules: an X-ray powder diffraction study. *Carbohydr. Polym.* 36:277–284

Chehtel, J. 1976. *Introducción a la bioquímica y biotecnología de los alimentos*. España. Acribia. 81-87, 118-129, 229-233.

Cheng, F. M., Zhong, L. J., Wang, F., Zhang, G. P. (2005)Differences in cooking and eating properties between chalky and translucent parts in rice grains,” *Food Chemistry*, vol. 90, no.1-2, pp. 39–46.

Chinma, C.E., Adewuyi, O., Abu, J.O., (2009). Effect of germination on the chemical, functional and pasting properties of flour from brown and yellow varieties of tigernut (*Cyperus esculentus*). *Food Res. Intl.* 42, 1004e1009.

Chinma, C.E., Anuonye, J.C., Simon, O.C., Ohiare, R.O., Danbaba, N., (2015). Effect of germination on the physicochemical and antioxidant characteristics of rice flour from three rice varieties from Nigeria. *Food Chem.* 185, 454e458.

Claver, I. P., Zhang, H., Li, Q., Zhu, K., & Zhou, H. (2010). Impact of the soak and the malt on the physicochemical properties of the sorghum starches. *International Journal of Molecular Sciences*, 11, 3002–3015.

Colín-Rico M, Zamora-Villa VM, Lozano del Río AJ, Martínez-Zambrano G, TorresTapia MA. (2007). Caracterización y selección de nuevos genotipos imberbes de cebada forrajera para el norte y centro de México. *Téc. Pec. Méx.* 45(3): 249- 262.

Conde-Petit, B., Nuessli, J., Arrigoni, E., Escher, F., Y Amadó, R. (2001). Perspectives of starch in food science. *Chimia*, 55(3), 201-205.

Correia, I., Nunes, A., Barros, A. S., & Delgadillo, I. (2008). Protein profile and malt activity during sorghum germination. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88, 2598–2605

Correia, I., Nunes, A., Barros, A. S., & Delgadillo, I. (2008). Protein profile and malt activity during sorghum germination. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88, 2598–2605.

Courtis, A. C. (2013). Germinación de las semillas, Fisiología vegetal. Guía de estudio. UNNE.

De la Hera, E., Gomez, M., & Rosell, C. M. (2013). Particle size distribution of rice flour affecting the starch enzymatic hydrolysis and hydration properties. *Carbohydrate Polymers*, 98(1), 421–427.

Diop, C., Li, H. L., Xie, B. J., & Shi, J. (2011). Effects of acetic acid/acetic anhydride ratios on the properties of corn starch acetates. *Food Chemistry*, 126, 1662–1669.

Donovan, J. W. (1979). Phase transitions of starch-water systems. *Biopolymers*, 18, 263–275.

Dutta, S., Barat, K., Das, A., Kumar, S., Shukla, A.K., Roy, H. (2014). Characterization of micrographs and fractographs of Cu-strengthened HSLA steel using image texture analysis. *Measurement* 47: 130–144.

Eerlingen, R. C.; Delcour, J. A. (1995). Formation, analysis, structure and properties of type III enzyme resistant starch. *Journal of Cereal Science*, v. 22, n. 2, p. 129-138.

Eerlingen, R. C.; Delcour, J. A. (1995). Formation, analysis, structure and properties of type III enzyme resistant starch. *Journal of Cereal Science*. Vol. 22, n. 2, p. 129-138.

Eerlingen, R.C., Deccunick, M., Delcour, J.A. (1993). Enzyme resistant starch 11. Influence of amylose chain length on resistant starch and formation. *Cereal Chem.* 70: 345–350.

Elin, H., Senol, I., & Ainsworth, P. (2004). Effect of fermented/germinated cowpea flour addition on the rheological and baking properties of wheat flour. *Journal of Food Engineering*, 63, 177–184.

Elkhalifa, A. O., Chandrashekar, A., & El Tinay, A. H. (1999). Effect of preincubation of sorghum with enzymes on the digestibility of sorghum gruel. *Food Chemistry*, 66, 339–343.

Elkhalifa, O., Bernhardt, R. (2010). Influence of grain germination on functional properties of sorghum flour. *Food Chemistry* 121: 387–392.

Elmoneim, A., Elkhalifa, O., Bernhardt, R. (2010). Influence of grain germination on functional properties of sorghum flour. *Food Chemistry* 121: 387–392.

Emiola, L., & Delarosa, L. C. (1981). Physicochemical characteristics of yam starches. *Journal of Food Biochemistry*, 5, 115–130.

Espinosa, R. E., Solorza, J., Arenas, M. L., Camacho, B. H., Del Villar, A. A., Vanegas, P. E., Jimenez, A. R. (2012). Morphostructural Characterization of Rice Grain (*Oryza sativa* L.) Variety Morelos A-98 during Filling Stages. *The Scientific World Journal*, Article ID 940293, 9 pages.

- Fang, J. M., Fowler, P.A. Tomkinson, J., Hill, C.A.S. (2002) The preparation and characterization of a series of chemically modified potato starches. *Carbohydrate. Polymers*, 47: 245-252.
- Fincher GB. (2011). Endosperm mobilization in barley. In: Ullrich SE (ed) *Barley: production, improvement and uses*. Wiley-Blackwell, Chichester, pp 449–477.
- French, D. (1972). Fine structure of starch and its relationship to the organisation of starch granules. *Denpun Kagaku* 19, 8–25.
- French, D. (1984). Organisation of starch granules. In: Whistler, R.L., BeMiller, J.N., Paschall, E.F. (Eds.), *Starch: Chemistry and Technology*, Academic Press, Orlando, pp. 183–247.
- Galliard, T., & Bowler, P. (1987). Morphology and composition of starch. In T. Galliard (Ed.), *Starch properties and potential* (pp. 57–78). Chichester: Wiley.
- Gao, H., Cai, J., Han, W., Huai, H., Chen, Y., & Wei, C. (2014). Comparison of starches isolated from three different *Trapa* species. *Food Hydrocolloids*, 37, 174-181. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.11.001>.
- Garg, G. K., & Virupaksha, T. K. (1970). Acid protease from germinated sorghum. Purification and characterization of the enzyme. *European Journal of Biochemistry*, 17, 4–12.
- Ghavidel, R. A., & Prakash, J. (2006). Effect of germination and dehulling on functional properties of legume flours. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 1189–1195.
- Gibson GR. (2008). Prebiotics as gut microflora management tools. *J Clin Gastroenterol*. 42:S75-S79.
- Gidley, M.J., Cooke, O., Darks, A.H., Hoffmann, R.A. , Russel, A.L., Greenwell, P. (1995). Molecular order and structure in enzyme-resistant retrograded starch. *Carbohydr. Polym.* 28: 23–31.

Gidley, M.J., Bulpin, P.V. (1987). Crystallization of maltooligosaccharides as models of the crystalline forms of starch: minimum chain-length requirement for the formation of double helices. *Carbohydrate Research* 161, 291-300.

Gomez, M. H., & Aguilera, J. M. (1983). Changes in the starch fraction during extrusioncooking of corn. *Journal of Food Science*, 48(2), 378–381.

Gryszkin, A., Zieba, T., Kapelko, M., & Buczek, (2014). A. Effect of thermal modifications of potato starch on its selected properties. *Food Hydrocolloids*, 40, 122-127. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.02.010>.

Guan, HP y Keeling, PL. (1998). “Starch Biosynthesis: Understanding the Functions and Interactions of Multiple Isozymes of Starch Synthase and Branching Enzyme”. *Trends in Glycosci and Glycotechnol*, vol. 10, pp. 307-319.

Guerra, D., Bello, L.A., González, R.A., Solorza, J., Arámbula, G. (2008). Efecto del tiempo de reacción en la acetilación de almidón de plátano. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. Vol. 7(3).

Guzmán, F. A. (2014). Cambios en la concentración y proporción de fitoquímicos en germinados de soya sometidos a un proceso optimizado de extrusión. Tesis Doctoral. Instituto Politécnico Nacional.

He, Q., Zhu, L., Shen, Y., Lin, X., Xiao, K. (2015). Evaluation of the effects of frozen storage on the microstructure of tilapia (*Perciformes: Cichlidae*) through fractal dimension method. *LWT - Food Science and Technology* 64: 1283-1288.

Hermansson, M. and Svegmarm, K. (1996). Developments in the understanding of starch functionality. *Trends in Food Science and Technology*, 7, 345-353.

Hernández, M., Torruco, J. C., Chel, L., Betancur, D. (2018). Caracterización fisicoquímica de almidones de tubérculos cultivados en Yucatán, México. *Cienc. Tecnol. Aliment. Campinas*, 28(3): 718-726.

Herrera, J., Alizaga, R., Guevara, E., Jiménez, V. (2006). Germinación y crecimiento de la planta. Vol. 4. Editorial UCR. Pp. 18-28.

Higgins TJV, Zwar JA, Jacobsen JV. (1976). GA-induced a -amylase synthesis in barley
Nature 260:166–169

Hizukuri, S. (1986). Polymodal distribution of the chain lengths of amylopectins, and its
significance. Carbohydrate Research. 147: 342-347.

Hoover, R. (2000). Acid-treated starches. Food Reviews International, 16(3), 369-392.
<http://dx.doi.org/10.1081/FRI-100100292>.

Hoover, R. (2001). Composition, molecular structure, and physicochemical properties of
tuber and root starches: a review. Carbohydrate Polymers, 45(3), 253-267.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0144-8617\(00\)00260-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0144-8617(00)00260-5).

Hoover, R., Ratnayake, W.S. (2001). UNIT E2.3Determination of Total Amylose Content of
Starch. Food Analytical Chemistry.

Hoseney, R. C., Zeleznak, K. J., Yost, D. A. (1986). A note the gelatinization of starch.
Starch/Stärke. 38: 407-409.

Hung, P. V., Maeda, T., & Morita, N. (2007). Study on physicochemical characteristics of
waxy and high-amylose wheat starches in comparison with normal wheat starch.
Starch/Staerke, 59(3-4), 125-131. [http:// dx.doi.org/10.1002/star.200600577](http://dx.doi.org/10.1002/star.200600577).

Ijarotimi, O.S., Keshinro, O.O., (2012). Formulation and nutritional quality of infant formula
produced from popcorn, bambara groundnut and african locust vean flour. J. Microbiol.
Biotechnol. Food Sci. 1, 1358-1388.

Imberty, A., Bule'on, A., Tran, V., Perez, S., (1991). Recent advances in knowledge of starch
structure. Starch/Stärke 43, 375–384.

Ingbian, E. K., & Adegoke, G. O. (2007). Proximate compositions, pasting and rheological
properties of mumu – A roasted maize meal. International Journal of Food Science and
Technology, 42, 762–767.

J. Xu, H. Zhang, X. Guo, H. Qian. (2011). The impact of germination on the characteristics
of brown rice flour and starch. J. Sci. Food Agric. 92: 380–387.

Jane J., Atichokudomchai N., Shu D.S. (2004). Internal structures of starch granules revealed by confocal laser-scanning microscopy. In starch: progress in structural studies, modifications and applications. Tomasik, P., Yuryev V.P, Betrof, E., Eds., Polish Society of Food Technologists: Kraków. PP. 147-156

Jane, J. L., & Robyt, J. F. (1984). Structure studies of amylose V complexes and retrogradated amylose by action of alpha amylase, a new method for preparing amyloextrins. Carbohydrate Research, 132, 105–110.

Jane, J.L., Ao, Z., Duvick, S.A., Wiklund, M., Yoo, S.H., Wong, K.S., Gardner, C. (2003). Structures of amylopectin and starch granules: how are they synthesized? J.Appl. Glycosci. 50: 167–172.

Jayakody, L., and R. Hoover. 2002. The effect of lintnerization on cereal starch granules. Food Res. Int. 35(7):665-680.

Jenkins, P. J., Cameron, R. E., & Donald, A. M. (1993). A universal feature in the structure of starch granules from different botanical sources. Stärke, 45(12), 417-420. <http://dx.doi.org/10.1002/star.19930451202>.

Jensen, S. A., Heltved, F. (1982). Visualization of enzyme activity in germinating cereal seeds using a lipase sensitive fluorochrome. Carlsberg Res. Commun. Vol. 47, p. 297-303.

Jiang, H., Jane, J. L., Acevedo, D., Green, A., Shinn, G., Schrenker, D., Srichuwong, S., Campbell, M., & Wu, Y. (2010). Variations in starch physicochemical properties from a generation-means analysis study using amylo maize V and VII parents. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58(9), 5633-5639. <http://dx.doi.org/10.1021/jf904531d>. PMID:20394425.

Kalita, D., Sarma, B., Srivastava, B. (2017). Influence of germination conditions on malting potential of low and normal amylose paddy and changes in enzymatic activity and physicochemical properties. Food Chemistry 220: 67–75.

Kinsella, J. E. (1976). Functional properties of protein in foods, a survey. CRC Critical Review Food Science and Nutrition, 7, 219–280.

Kinsella, J. E. (1979). Functional properties of soy protein. *Journal of the American oil Chemists Society*, 56, 242–257.

Kolmakov K., Belov V. N., Bierwagen J. Rigemann C., Müller V., Eggeling C. y Stefan Hell W. (2010). Red-Emitting Rhodamine Dyes for Fluorescence Microscopy and Nanoscopy. *Chemical a European Journal*, 16:158-166.

Kong, X., Kasapis, S., Bao, J., & Corke, H. (2012). Influence of acid hydrolysis on thermal and rheological properties of amaranth starches varying in amylose content. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(8), 1800-1807. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.5549>. PMID:22318856.

Kono, S., Tobar, Y., Araki, T., Sagara, Y. (2017). Investigating the ice crystal morphology in frozen cooked rice based on size, fractal dimension and ANN modeling. *international journal of refrigeration* 84: 210–219

Krossmann, J., & Lloyd, J. (2000). Understanding and influencing starch biochemistry. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 35, 141–196.

Kuakpetoon, D. y Wang, Y.J. (2006). Structural characteristics and physicochemical properties of oxidized corn starches varying in amylose content. *Carbohydrate Research*: 341, (11), 1896-1915.

Lee, YT., Shim, MJ., Goh, HK., Mok, C., Puligundla, P. (2018). Effect of jet milling on the physicochemical properties, pasting properties, and in vitro starch digestibility of germinated brown rice flour. *Food Chemistry*. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.179>.

Leszczyński, W. (2004). Resistant starch – classification, structure, production. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 13(54), 37-50.

Li, C., Oh, SG., Lee, DH., Baik, HW., Chung, HJ. (2017). Effect of germination on the structures and physicochemical properties of starches from brown rice, oat, sorghum, and millet. *International Journal of Biological Macromolecules* 105: 931–939.

Lian, X., Zhu, W., Wen, Y., Li, L., Zhao, X. (2013). Effects of soy protein hydrolysates on maize starch retrogradation studied by IR spectra and ESI-MS analysis. *International Journal of Biological Macromolecules* 59: 143– 150.

Lira, J. (2002). *Introducción al Tratamiento Digital de Imágenes*. Fondo de Cultura Económica e IPN, Tamaulipas, México.

Liu, H., Lelievre, J., & Ayoung-Chee, W. (1991). A study of starch gelatinization using differential scanning calorimetry, X-ray, and birefringence measurements. *Carbohydrate Research*, 210(C), 79-87. [http://dx.doi.org/10.1016/0008-6215\(91\)80114-3](http://dx.doi.org/10.1016/0008-6215(91)80114-3).

Liu, X., Wu, J. H., Xu, J. H., Mao, D. Z., Yang, Y. J., & Wang, Z. W. (2016). The impact of heat-moisture treatment on the molecular structure and physicochemical properties of Coix seed starches. *Starch-Stärke*, 68, 662–674.

López P, Prieto F, Gaytán M y Román AD. (2007). Caracterización fisicoquímica de diferentes variedades de cebada cultivadas en la región centro de México. *Rev. Chil. Nutr.* 34(1): 1-12.

López, B.M. Flanagan, E.P. Gilbert, M.J. Gidley. (2008). Novel approach for calculating starch crystallinity and its correlation with double helix content: a combined XRD and NMR study. *Biopolymers* 89 761–768.

López, O. V., Zaritzky, N. E., & García, M. A. (2010). Physicochemical characterization of chemically modified corn starches related to rheological behavior, retrogradation and film forming capacity. *Journal of Food Engineering*, 100(1), 160-168. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.03.041>.

López, O. V., Zaritzky, N. E., & García, M. A. (2010). Physicochemical characterization of chemically modified corn starches related to rheological behavior, retrogradation and film forming capacity. *Journal of Food Engineering*, 100(1), 160-168. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.03.041>.

Mano J.F., Koniarova D., Reis R.L. (2003). Thermal properties of thermoplastic starch/synthetic polymer blends with potential biomedical applicability. *Journal of Materials Science* 14, 127-135.

Mason, W. R., & Hosney, R. C. (1986). Factors affecting the viscosity of extrusion-cooked wheat starch. *Cereal Chemistry*, 63(5), 436–441.

Meaño, N., Ciarfella, A., Dorta, A. (2016). Caracterización morfológica y perfil viscoamilográfico del almidón nativo de ñame congo (*Dioscorea bulbifera* L.). *Saber, Universidad de Oriente, Venezuela*. Vol. 28 N° 2: 250-256.

Moreno, M. C., Bouchon, P., & Brown, C. A. (2010). Evaluating the ability of different characterization parameters to describe the surface of fried foods. *Scanning*, 32 (4), 212–218.

Moreno, M. C., Brown, C. A., & Bouchon, P. (2010). Effect of food surface roughness on oil uptake by deep-fat fried products. *Journal of Food Engineering*, 101(2), 179– 186.

Morrison W. (1995). “Starch Lipids and How They Relate to Starch Granule Structure and Functionality”. *Cer. Foods World*, vol. 40, pp. 437-446.

Morrison, W. R., Tester, R. F., Snape, C. E., Law, R., & Gidley, M. J. (1993). Swelling and gelatinization of cereal starches. IV. Some effects of lipid-complexed. *Cereal Chemistry*, 70(4), 385-391.

Morrison, W. R., Tester, R. F., Snape, C. E., Law, R., & Gidley, M. J. (1993). Swelling and gelatinization of cereal starches. IV. Some effects of lipid-complexed. *Cereal Chemistry*, 70(4), 385-391.

Mua, J.P., Jackson, D.S., (1997). Fine structure of corn amylose and amylopectin fractions with various molecular weights. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 3840–3847.

Müntz K, Belozersky MA, Dunaevsky YE, Schlereth A, Tiedemann J J. (2001). Proteases and reserve mobilization during and following germination. *Exp Bot* 52:1741–1752

Muñoz, J., Alfaro, M., Zapata, I. (2007). Avances en la formulación de emulsiones. GRASAS Y ACEITES, 58 (1), 64-73.

Muralikrishna, G., & Nirmala, M. (2005). Cereal α -amylases—An overview. Carbohydrate Polymer, 60. 163–17.

Murray, R., Bender, D., Botham, K. (2000). Bioquímica de Harper ilustrada. 28 edición. Editorial Lange.

Paredes-López, O., M. L. Schevenin, D. Hernández-López, and A. Cárabez.. (1989). Amaranth starch isolation and partial characterization. Starch/Stärke: 41: 205.

Pérez,S., Bertoft, E. (2010). The molecular structures of starch components and their contribution to the architecture of starch granules: a comprehensive review, Starch/Stärke 62: 389–420.

Piperno DR (2006): Identifying manioc (*Manihot esculenta* Crantz) and other crops in precolumbian tropical America through starch grain analysis: a case study from Central Panama, in Zeder, M, Emschwiller, E and Smith, B (eds), Documenting Domestication: New Genetic and Archaeological Paradigms, pp 46-47, Berkeley, CA: University of California Press.

Pita, J. M., Perez, F. (1998). Germinación de semillas. Ministerio de agricultura, pesca y alimentación. ISBN: 84-491-0356-8. Num. 2090HD.

Quadir, N., Wani, S. A., Bhat, B. A., Wani, T. A., & Quraazah, A. (2012). Germination behavior of some Kashmiri paddy cultivars. Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences, 2, 1820–1829.

Quevedo, R., Carlos, L. G., Aguilera, J. M., & Cadoche, L. (2002). Description of food surfaces and microstructural changes using fractal image texture analysis. Journal of Food Engineering, 53(4), 361–371.

Quevedo, R., Carlos, L. G., Aguilera, J. M., & Cadoche, L. (2002). Description of food surfaces and microstructural changes using fractal image texture analysis. Journal of Food Engineering, 53(4), 361–371.

- Rahimi, J., Ngadi, M. O. (2016). Structure and irregularities of surface of fried batters studied by fractal dimension and lacunarity analysis. *Food Structure* 9: 13–21.
- Ratnayake, W. S., Hoover, R., & Warkentin, T. (2002). Pea starch: composition, structure and properties - a review. *Starch/Staerke*, 54(6), 217-234. [http://dx.doi.org/10.1002/1521-379X\(200206\)54:6<217::AID-STAR217>3.0.CO;2-R](http://dx.doi.org/10.1002/1521-379X(200206)54:6<217::AID-STAR217>3.0.CO;2-R).
- Raven, P.H., Evert, R.F., Eichhorn, S.E. (1992). *Biología de las plantas*. Vol 2. Editorial Reverte S.A: 382-383
- Ring, S. G., Collona, P., Panson, K. J., Kalicheversky, M. T., Miles, M. J., Morris, V. J., & Oxford, P. D. (1987). The gelation and crystallization of amylopectin. *Carbohydrate Research*, 162, 277–293.
- Rivas, M., Méndez, M. G., Sánchez, M. M., Núñez, M. M., Bello L. A. (2008) caracterización morfológica, molecular y fisicoquímica del almidón de plátano oxidado y lintnerizado. *Agrociencia* 42: 487-497. 2008.
- SAGARPA. (2016)Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural y Pesca. Delegación de Hidalgo. www.siap.sagarpa.gob.mx.
- Sajilata MG. (2006). Singhal RS. Kulkarni PR. Resistant starch-a review, *Compr Rev Food Sci Food Saf*; 5:1–17.
- Sang, Y., Bean, S., Seib, P.A., Pedersen, J., Cheng Shi, y. (2008). Structure and Functional Properties of Sorghum Starches Differing in Amylose Content. *J. Agric. Food Chem.* 56, 6680–6685.
- Sarker, M. Z. I., Elgadir, M. A., Ferdosh, S., Akanda, M. J. H., Aditiawati, P., & Noda, T. (2013). Rheological behavior of starch-based biopolymer mixtures in selected processed foods. *Starch/Staerke*, 65(1-2), 73-81. <http://dx.doi.org/10.1002/star.201200072>.
- Sasaki, T., Yasui, T., & Matsuki, J. (2000). Effect of amylose content on gelatinization, retrogradation and pasting properties of starches from waxy and non-waxy wheat and their F1 seeds. *Cereal Chemistry*, 77, 58–63.

Saunders, J., Levin, D. B., & Izydorczyk, M. (2011). Limitations and challenges for wheat-based bioethanol production. InTech. Retrieved from http://cdn.intechopen.com/pdfs/17894/InTech-Limitations_and_challenges_for_wheat_based_bioethanol_production.pdf

Sevenou, O., Hill, S.E., Farhat, I.A., Mitchell, J.R. (2002). Organisation of the external region of the starch granule as determined by infrared spectroscopy. *International Journal of Biological Macromolecules* 31, 79–85.

Shaarawi, AH., Piegorsc, W. (2012). *Encyclopedia of environmetrics*. Wiley, 2nd Edition, Volume 6.

Shamekh, S., Päivi, M., Kaisa, P., Forsse, P. (2002). Film Formation Properties of Potato Starch Hydrolysates. *Starch/Stärke*, 54(1), , p. 20-24.

Singh N., Singh S., Isono, N, Noda T., Singh A. M. (2009). Diversity in amylopectin structure, thermal and pasting properties of starches from wheat varieties/lines. *International Journal of Biological Macromolecules* 45: 298–304

Singh, A., Sharma, S., (2017). Bioactive components and functional properties of biologically activated cereal grains: a bibliographic review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 57 (14), 3051-3071, 131-139.

Singh, A., Sharma, S., Singh, B. (2017). Effect of germination time and temperature on the functionality and protein solubility of sorghum flour. *Journal of Cereal Science* 76.

Singh, J., Kaur, L., & McCarthy, O. J. (2007). Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications - a review. *Food Hydrocolloids*, 21(1), 1-22. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2006.02.006>.

Singh, N., Singh, J., Kaur, L., Singh Sodhi, N., Singh Gill, B. (2003). Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. *Food Chemistry* 81: 219-231.

- Smith, A. M. (2001). The biosynthesis of starch granules. *Biomacromolecules*, 2(2), 335-341. <http://dx.doi.org/10.1021/bm000133c>. PMID:11749190.
- Sosulski, F. W., Humbert, F. S., Bui, K., & Jones, J. D. (1976). Functional properties of rapeseed flours, concentrates and isolates. *Journal of Food Science*, 46, 1349–1353.
- Srichuwong, S., Jane, J. (2007). Physicochemical properties of starch affected by molecular composition and structures: a review. *Food Sci. Biotechnol.* 16: 663–674.
- Stevens, D. J., & Elton, G. A. H. (1971). Thermal properties of starch/ water system. I. Measurement of heat of gelatinization by differential scanning calorimetry. *Starch*, 23, 8–11.
- Subba Rao, B. H., & Srinivasan, K. S. (1988). Enzymatic modification of groundnut flour (by papain/protease) and its effect on functional properties. *LWT – Food Science and Technology*, 21, 126–130.
- Sun, J., Wu, D., Xu, J., Rasmussen, S. K., Shu, X. (2015). Characterisation of starch during germination and seedling development of a rice mutant with a high content of resistant starch. *Journal of Cereal Science* 62: 94-101.
- Tan, H. Z., Gu, W. Y., Zhou, J. P., Wu, W. G., & Xie, Y. L. (2006). Comparative study on the starch noodle structure of sweet potato and mung bean. *Journal of Food Science*, 71(8), C447-C455. [http:// dx.doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00150.x](http://dx.doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00150.x).
- Tang, H., Watanabe, K., Mitsunaga, T. (2002). Structure and functionality of large, medium and small granule starches in normal and waxy barley endosperms. *Carbohydrate Polymers*, 49: 217–224.
- Tarr, A., Diepeveen, D., Appels, R. (2012). Spectroscopic and chemical fingerprints in malted barley. *Journal of Cereal Science* 56; 268-275
- Tester, R. F., & Debon, S. J. J. (2000). Annealing of starch - a review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 27(1), 1-12.
- Tester, R. F., & Morrison, W. R. (1990). Swelling and gelatinization of cereal starches. *Cereal Chemistry*, 67, 558–563.

Tester, R. F., Debon, S. J.J. (2000). Annealing of starch a review. *Int. J. Biological Macromol.* 27: 1-12.

Tester, R. F., Karkalas, J., Qi, X. (2004). Starch-composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science* 39 151-165.

Tester, R. F., Qi, X., & Karkalas, J. (2006). Hydrolysis of native starches with amylases. *Animal Feed Science and Technology*, 130(1-2), 39-54. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.01.016>.

Tester, R.F., Morrison, W.R. (1990). Swelling and Gelatinization of Cereal Starches. I. Effects of Amylopectin, Amylose, and Lipids. *Cereal Chem.* 67: 551–557.

Tester, R.F., Karkalas, J. (2002). Starch. In: Steinbüchel, A. (Series Ed.) Vandamme, E.J., De Baets, S., Steinbuchel, A. (vol. Eds.), *Biopolymers*, vol. 6. Polysaccharides. II. Polysaccharides from Eukaryotes, Wiley–VCH, Weinheim, pp. 381–438.

Thomas, D. J., and W. A. Atwell. (1999). *Starches: Practical Guides for the Food Industry*. St. Paul, M N. USA. Egan Press Handbook Series AACC. pp: 19-22.

Umamoto, T., Nakamura, Y., Ishikura, N. (1995). Activity of starch synthase and the amylose content in rice endosperm. *Phytochemistry*, vol. 40, no. 6, pp. 1613–1616.

Uthumporn U, Zaidul ISM, Karim AA. (2010). Hydrolysis of granular starch at sub-gelatinization temperature using a mixture of amylolytic enzymes. *Food Bioprod Process.* 88: 47–54. doi: 10.1016/j.fbp. 2009.10.001.

Vamadevan, V., & Bertoft, E. (2015). Structure-function relationships of starch components. *Starch/Staerke*, 67(1-2), 55-68. <http://dx.doi.org/10.1002/star.201400188>.

Van der Heden. (2015). La cerveza: Ingredientes. <http://caeliacerea.blogspot.mx/2015/03/ingredientes-i-la-cebada.html>. Visto 24 de marzo del 2017.

- Van Soest, J.J.G., Tournois, H., de Wit, D., Vliegthart, J.F.G. (1995). Short-range structure in (partially) crystalline potato starch determined with attenuated total reflectance Fourier-transform IR spectroscopy *Carbohydr. Res.* 279: 201–214.
- Velupillai, S., Nithyanantharajah, K., Vasantharuba, S., Balakumar, S., Arasaratnam, V., (2009). Biochemical changes associated with germinating rice grains and germination improvement. *Rice Science* 16, 240-242.
- Wang, L. Z. White, P. J. (1994). Structure and physicochemical properties of starches from oats with different lipid content. *Cereal Chemistry*, 71, n. 5b, p. 443-450.
- Wang, L. Z.; White, P. J. (1994). Structure and properties of amylose, amylopectin and Intermediate materials of oat starches. *Cereal Chemistry*, v. 71, n. 5, p. 263-268,
- Wang, L., & Weller, C. L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, 17(6), 300-312. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2005.12.004>.
- Waterschoot, J., Gomand, S. V., Fierens, E., & Delcour, J. A. (2015). Production, structure, physicochemical and functional properties of maize, cassava, wheat, potato and rice starches. *Starch/Staerke*, 67(1-2), 14-29. <http://dx.doi.org/10.1002/star.201300238>.
- Waterschoot, J., Gomand, S. V., Fierens, E., & Delcour, J. A. (2015). Starch blends and their physicochemical properties. *Starch/Staerke*, 67(1-2), 1-13. <http://dx.doi.org/10.1002/star.201300214>.
- Wu, H. Chen, N. Yang, J. Wang, X. Duan, Z. Jin, X. Xu, J. (2013). Effect of germination time on physicochemical properties of Brown rice flour and starch from different rice cultivars *Cereal Sci.* 58 263–271.
- Xu, J., Zhang, H., Guo, X., Qian, H., (2012). The impact of germination on the characteristics of brown rice flour and starch. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2, 380e387.
- Xu, L., Chen, L. (2017). Impact of germination on nutritional and physicochemical properties of adlay seed (*Coixlachryma-jobi* L.) *Food Chemistry* 229: 312–318

- Yadav, B. S., Guleria, P., & Yadav, R. B. (2013). Hydrothermal modification of Indian water chestnut starch: Influence of heat-moisture treatment and annealing on the physicochemical, gelatinization and pasting characteristics. *LWT - Food Science and Technology (Campinas.)*, 53(1), 211-217.
- Yoshioka, Y., Iwata, H., Tabata, M., Ninomiya, S., Ohsawa, R. (2007). Chalkiness in rice: potential for evaluation with image analysis. *Crop Science*, vol. 47, no. 5, pp. 2113–2120.
- You, S-Y., Oh, S-G., Han, H. M., Jun, W., Hong, Y-S., Chung, H-G. (2016). Impact of germination on the structures and in vitro digestibility of starch from waxy brown rice. *International Journal of Biological Macromolecules* 82 863–870.
- Yuan, R. C., Thompson, D. B., & Boyer, C. D. (1993). Fine structure of amylopectin in relation to gelatinization and retrogradation behavior of maize starches from three wx-containing genotypes in two inbred lines. *Cereal Chemistry*, 70, 81-81.
- Zhang, P., Whistler, R. L., BeMiller, J. N., & Hamaker, B. R. (2005). Banana starch: production, physicochemical properties, and digestibility — a review. *Carbohydrate Polymers*, 59(4), 443-458. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2004.10.014>.
- Zhang, X., Tong, Q., Zhu, W., & Ren, F. (2013). Pasting, rheological properties and gelatinization kinetics of tapioca starch with sucrose or glucose. *Journal of Food Engineering*, 114(2), 255–261.
- Zheng, C., Sun, D. W., & Zheng, L. (2006). Recent applications of image texture for evaluation of food qualities—a review. *Trends in Food Science and Technology*, 17 (3), 113–128
- Zheng, C., Sun, D. W., & Zheng, L. (2006). Recent applications of image texture for evaluation of food qualities—a review. *Trends in Food Science and Technology*, 17 (3), 113–128.
- Zobel, H.F. (1988). Starch crystal transformations and their industrial importance. *Starch/Stärke* 40, 1–7.

IX. ANEXOS

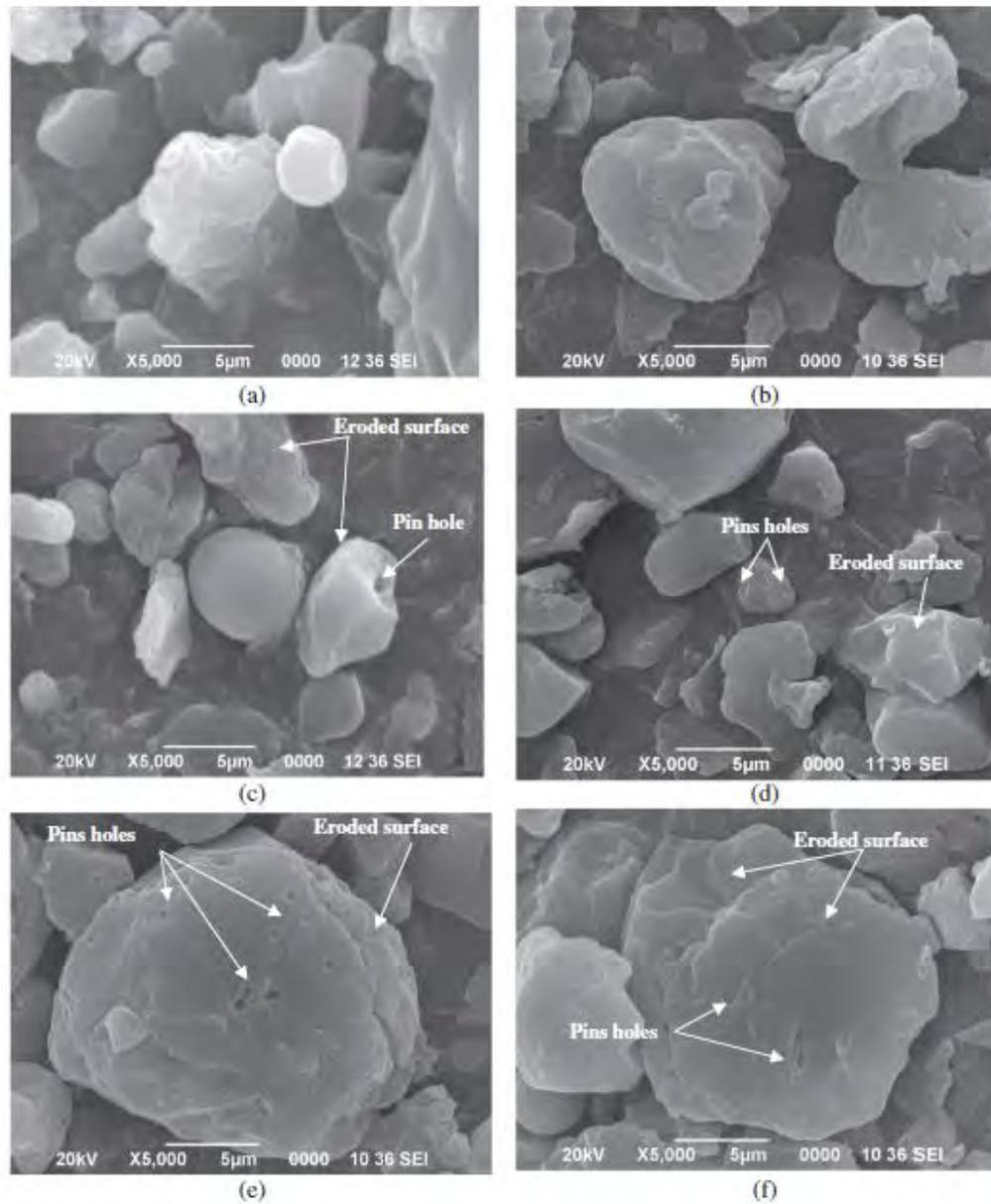


Figura 20. Micrografías electrónicas de barrido de arroz. a. arroz nativo bajo contenido de amilosa; b. arroz nativo normal c. arroz nativo bajo contenido de amilosa a 30 °C (120 h); d. arroz nativo bajo contenido de amilosa a 35 °C (120 h); e. arroz nativo normal a 30 °C (120 h) and f. arroz nativo normal a 35 °C (120 h).

(Tomada de Kalita y col., 2017)

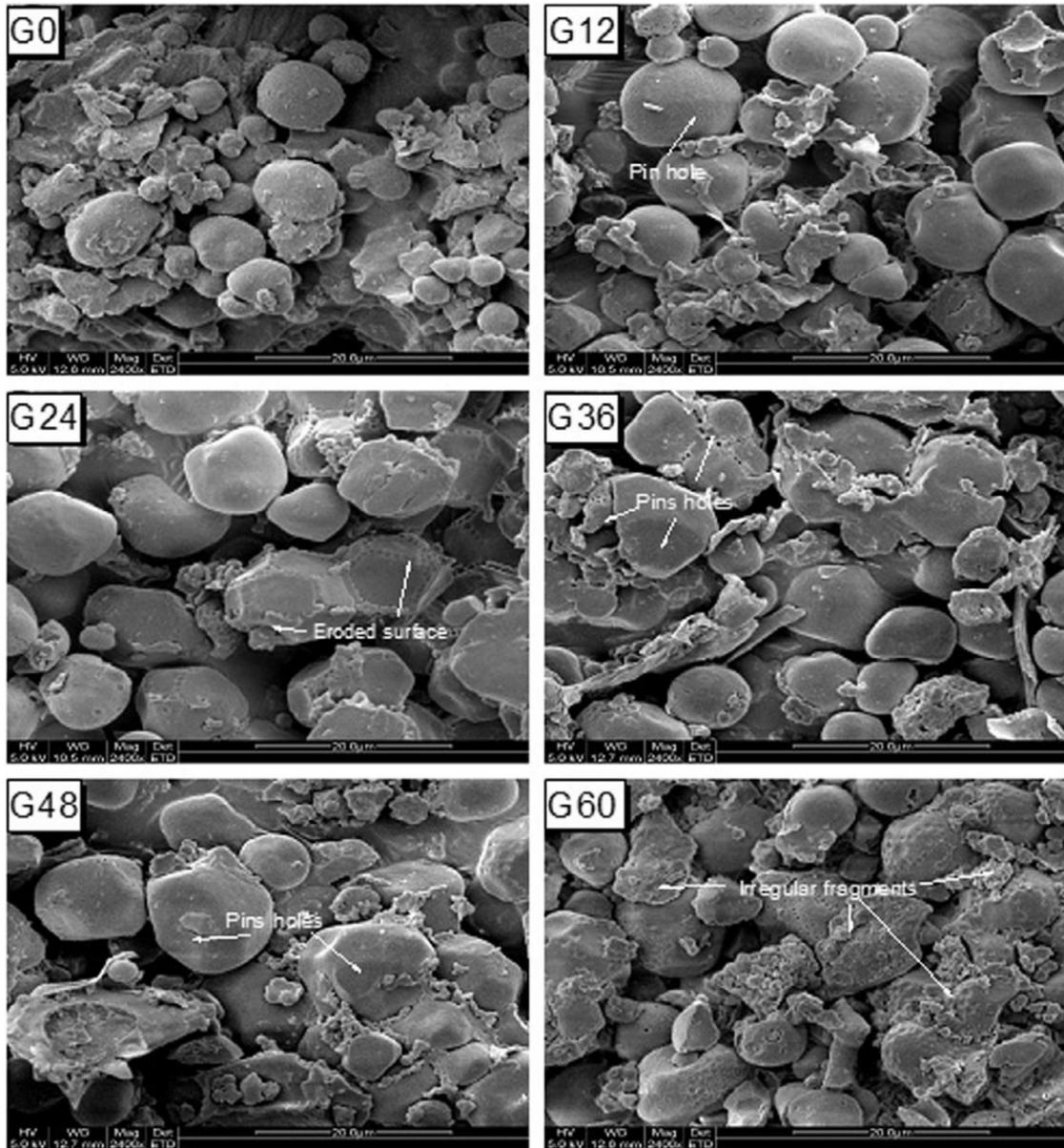


Figura 21. Micrografías electrónicas de barrido de harina de semillas Adlay a diferentes etapas de la germinación.

(Tomada de Xu y col., 2017)

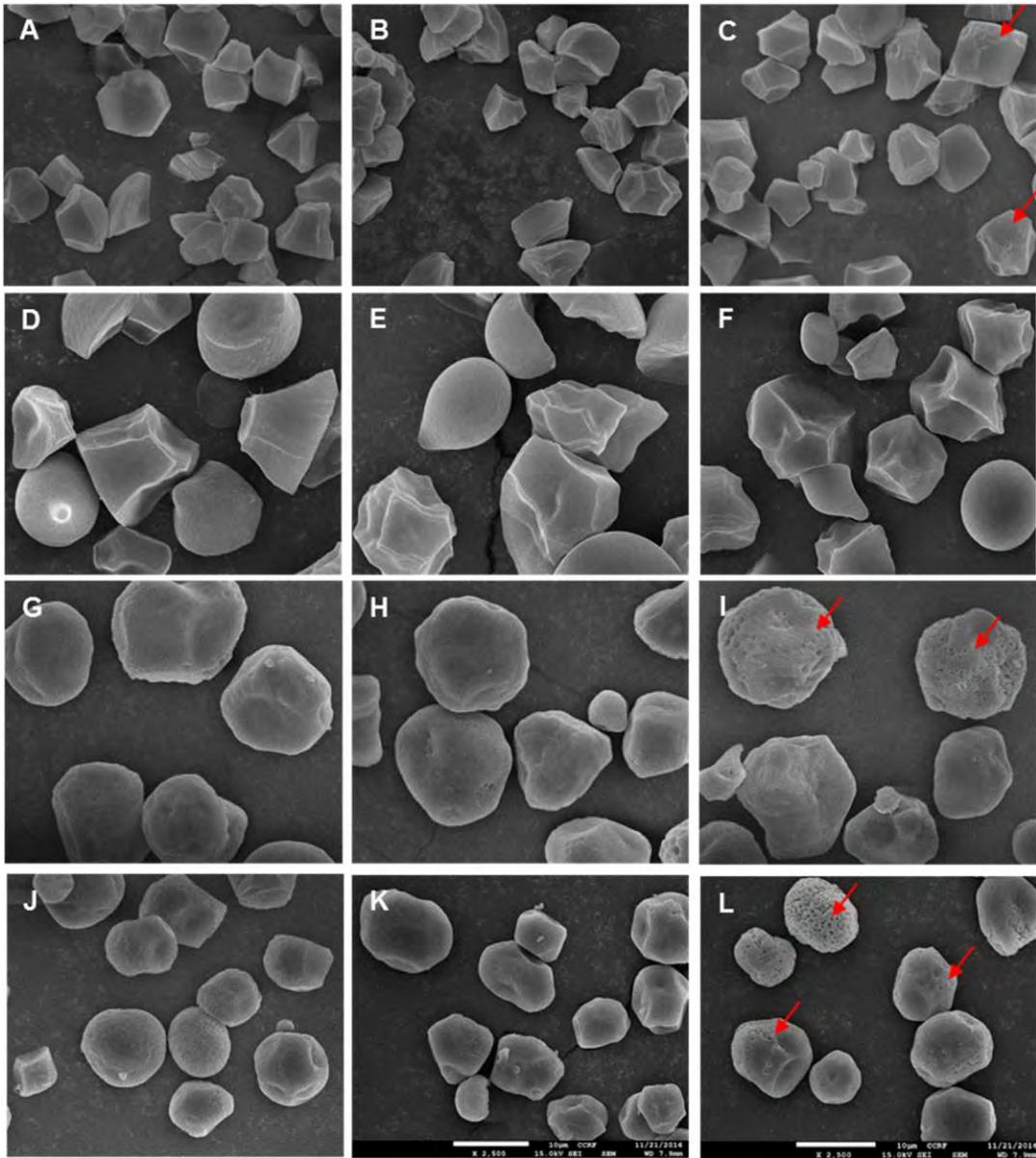


Figura 22. Micrografías electrónicas de barrido de almidones nativos y germinados de arroz integral, avena, sorgo y mijo. a. arroz nativo; b. arroz germinado 24h; c. arroz germinado 48h; d. avena nativa; e. avena germinada 24h; f. avena germinada 48h; g. sorgo nativo; h. sorgo germinado 24h; i. sorgo germinado 48h; j. mijo nativo; k. mijo germinado 24h; l. mijo germinado 48h.

(Tomada de Li y col., 2017)

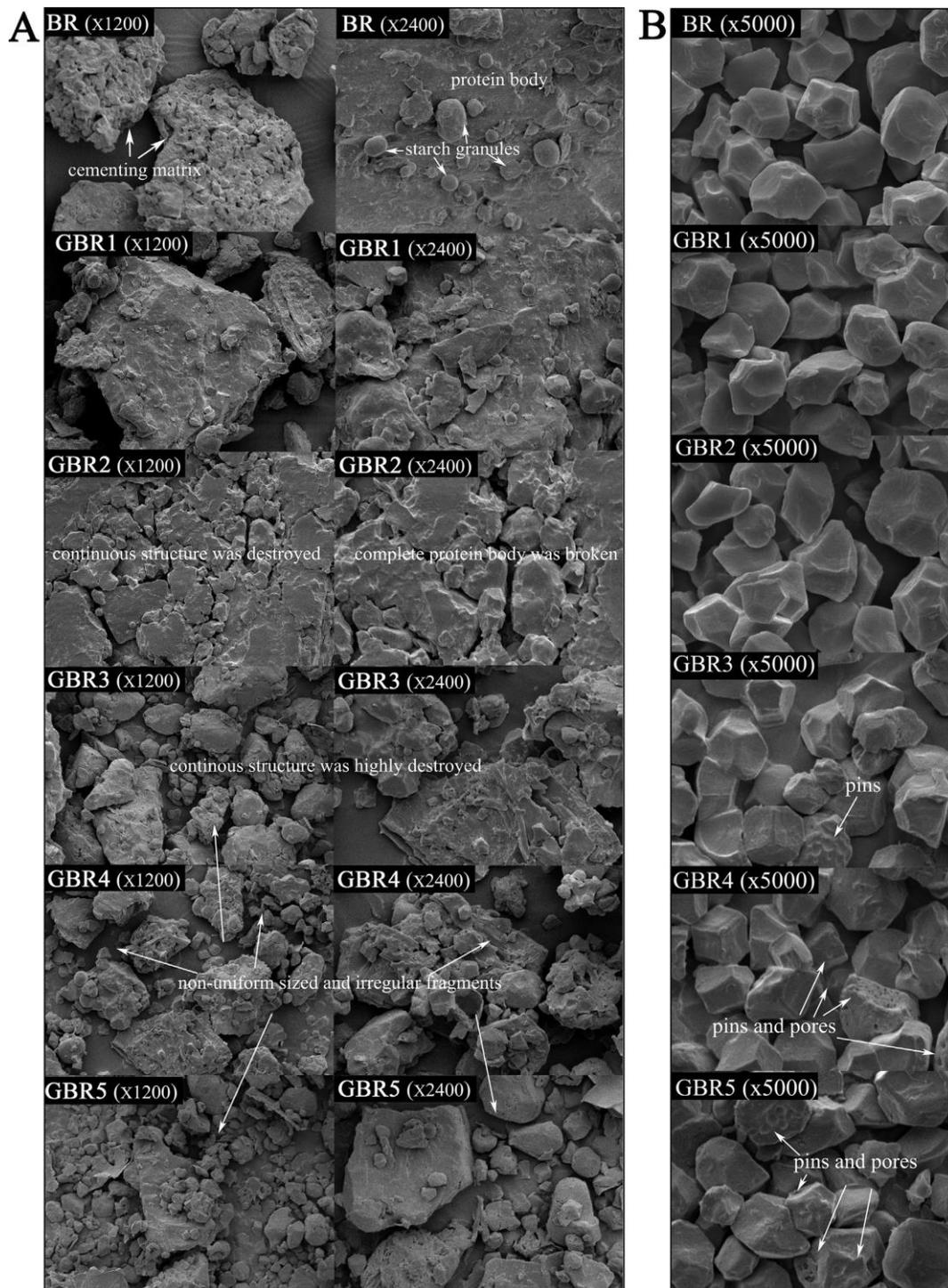


Figura 23. Fotomicrografías electrónicas de barrido de harina y almidón de arroz y arroz germinado. A. harina de arroz integral; B. almidón aislado de arroz.

(Tomada de Wu y col., 2013)