



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

MAESTRIA EN CIENCIA DE ALIMENTOS

TESIS

Evaluación de propiedades fisicoquímicas, mecánicas y de digestibilidad de panes elaborados a partir de granos germinados de *Triticum aestivum*

Para obtener el grado de
Maestro en Ciencia de los Alimentos

P R E S E N T A

I.A. EDUARDO DE JESÚS MENDOZA MORENO

Director (a)

Dr. Apolonio Vargas Torres

Comité Tutorial

Dra. Heidi María Palma Rodríguez

Dr. Juan Pablo Hernández Uribe

Dr. Ricardo Omar Navarro Cortez



El presente trabajo se llevó a cabo en el Instituto de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo en los laboratorios de microbiología, fisicoquímica y análisis especiales, Hidalgo, bajo la dirección del Dr. Apolonio Vargas Torres. Para la realización de los estudios se contó con el apoyo económico de CONAHCYT (con numero de CVU 1235578).

Agradecimientos:

En primer lugar, quiero expresar mi gratitud a mis padres, quienes siempre me han brindado un apoyo incondicional en todos los aspectos de mi vida personal y académica. Su amor, ejemplo de perseverancia y enseñanzas han sido la base que me impulsa a seguir adelante, incluso en los momentos de adversidad. A ellos les debo el respaldo emocional y material que me ha permitido concentrarme en mis estudios y nunca renunciar a mis metas.

Agradezco profundamente a mi director de tesis, el Dr. Apolonio Vargas Torres, cuyo compromiso y paciencia han sido fundamentales para llegar hasta esta etapa. Sus correcciones precisas, orientación y consejos han sido una guía invaluable, y sus palabras seguirán resonando en mí mientras avanzo en mi camino profesional.

A mi comité, integrado por el Dr. Juan Pablo Hernández Uribe, el Dr. Ricardo Omar Navarro Cortez y la Dra. Heidi María Palma Rodríguez, les agradezco sinceramente sus valiosas sugerencias y el apoyo en el trabajo de laboratorio. Su orientación fue esencial para enriquecer tanto el proceso como el resultado de este proyecto.

Mi agradecimiento también va para mis compañeros y amigos, a Arely, gracias por escucharme siempre, por tus palabras de aliento y por tu apoyo en el trabajo experimental; tu presencia fue una gran ayuda en momentos clave. A Román, gracias por tu generosidad al brindarme nuevas lecturas y recursos que contribuyeron al desarrollo de este trabajo, así como por tus consejos, que me ayudaron a entender mis áreas de mejora y a seguir avanzando.

Finalmente, pero con especial importancia, quiero agradecer a Irania, mi novia. Gracias por tu incondicionalidad, tu fuerza y cariño, por ser el apoyo constante que me ayuda a encontrar el camino incluso en los días más difíciles. Tu presencia ha sido una fuente de ánimo y fortaleza.

Gracias a todos ustedes por haber sido parte de este camino; cada uno ha dejado una huella en mí, y sin su apoyo este proyecto no hubiera podido llevars

Contenido

Índice de tablas	IV
Índice de Figuras	IV
RESUMEN	V
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	3
2.1. El trigo	3
2.2. La importancia del trigo.....	6
2.3. Germinación	9
2.4. Factores que impactan sobre la germinación	11
2.4.1. Condiciones extrínsecas	12
2.4.2. Condiciones intrínsecas.....	15
2.5. Beneficios de la germinación	22
2.6. Modificaciones moleculares durante la germinación	24
2.6.1. Proteínas	25
2.6.2. Carbohidratos	26
2.7. Condiciones para la germinación <i>in vitro</i>	29
III. JUSTIFICACIÓN.....	32
IV.OBJETIVOS	32
4.1. Objetivo general	32
4.2. Objetivos específicos.....	32
V. MATERIALES Y MÉTODOS	33
5.1. Perfil de calidad de los granos	36
5.1.1 Peso de mil granos	36
5.1.2 Peso hectolítrico	36
5.1.3. Pretratamiento de desinfección	37
5.2 Germinación.....	37
5.2.1. Porcentaje de germinación	38
5.3. Molienda	39

5.4 Evaluación de las propiedades funcionales de las harinas	39
5.4.1. 5.4.1. Capacidad de absorción de agua e índice de solubilidad en agua	39
5.4.2. Capacidad de absorción de aceite (CAAc)	40
5.4.3. Poder de hinchamiento	41
5.5. Análisis proximales	41
5.6 Propiedades reológicas	42
5.6.1. Extensibilidad uniaxial	42
5.7 Microscopía Electrónica de Barrido.....	42
5.8. Elaboración del pan	43
5.10. Pruebas de pan	43
5.10.1 Volumen específico.....	43
5.10.2. Análisis de Perfil de textura (TPA).....	44
5.10.3. Digestibilidad de proteína <i>in vitro</i>	44
5.10.4. Digestibilidad de almidón	45
VI. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	47
VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
7.1 Perfil de calidad del grano	47
7.1.1. Peso hectolítrico	47
7.1.2. Peso de mil granos	48
7.2. Caracterización químico-proximal	49
7.3. Caracterización tecno-funcional.....	52
7.3.1. Capacidad de absorción de agua (CAA)	53
7.3.2. Índice de solubilidad en Agua (ISA)	53
7.3.3. Capacidad de absorción de aceite	55
7.3.4. Poder de hinchamiento	55
7.4. Caracterización morfológica	56
7.5. Extensibilidad uniaxial	58
7.6. Cambios de la estructura cristalina en las harinas	61
7.7 Propiedades físicas del pan	64
7.7.1 Volumen específico.....	66

7.7.2 Propiedades mecánicas	68
7.7.3. Digestibilidad del proteína <i>in vitro</i>	73
7.7.4 Digestibilidad del almidón <i>in vitro</i>	76
VIII. CONCLUSIÓN.....	79
IX. REFERENCIAS	82

Índice de tablas

Tabla 1. Composición nutricional del trigo	8
Tabla 2. Principales fitohormonas involucradas durante la germinación	16
Tabla 3. Beneficios obtenidos por la germinación bajo distintos tiempos	22
Tabla 4. Vista general de las distintas condiciones de remojo, germinación y secado de trigo en distintos artículos	30
Tabla 5. Proporciones de mezclas para la formulación de distintos panes obtenidos de harina integral de trigo germinado sin germinar	35
Tabla 6. Composición químico-proximal obtenida de harinas de trigo germinado y sin germinar	50
Tabla 7. Propiedades Tecno-funcionales de mezclas de harina de trigo germinado y sin germinar	54
Tabla 8. Resultados de extensibilidad uniaxial de mezclas de harinas de trigo germinado y sin germinar	59
Tabla 9. Propiedades mecánicas y volumen específico de panes obtenidos de mezclas de granos germinados	67
Tabla 10. Resultados de digestibilidad de almidón y proteína en condiciones in vitro de pan hecho a partir de mezclas de granos germinados de trigo	74

Índice de Figuras

Figura 1. Estructura del grano de trigo	5
Figura 2. Variables específicas asociadas con las predicciones de la dormancia y la germinación de las semillas	10
Figura 3. Curso Temporal de los principales acontecimientos asociados con la germinación y el crecimiento post-germinativo	13
Figura 4. Movilización de las reservas de almidón durante la germinación	27
Figura 5. Micrográficas electrónicas de barrido (X2000) de gránulos de almidón de trigo germinado y sin germinar	57
Figura 6. Patrón de difracción (2θ) de harinas de trigo a distintos tiempos de germinación y sin germinar	63
Figura 7. Estructura interna de la miga de panes obtenidos a partir de las mezclas	65

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo de investigación fue evaluar el efecto de la actividad enzimática derivada de la germinación inducida en granos de trigo panadero sobre la composición químico-proximal, las propiedades tecno-funcionales y calidad reológica de las masas; así como, las características mecánicas, de volumen específico y de digestibilidad in vitro de los panes elaborados con harinas a distintos tiempos de germinación.

Se realizó un análisis sobre distintas configuraciones de mezclas a partir de tres harinas distintas: Harina obtenida de granos con germinación inducida por 12 horas (GI-12 h), harina obtenida de granos con germinación inducida por 48 horas (GI-NG h) y harina obtenida de granos nativos que no experimentaron ninguna germinación (NG). En cuanto a su composición los granos de trigo experimentaron cambios notorios, derivados de la acción de las enzimas hidrolíticas sobre los principales nutrientes del endospermo, en particular en la proteína, se observó un doble mecanismo de degradación/síntesis en los tratamientos GI-12 h y GI-48 h, donde se obtuvo un menor porcentaje de proteína con respecto al tratamiento NG.

Con respecto a las propiedades tecno-funcionales las harinas con germinación inducida (GI) se obtuvo una respuesta favorable frente a la capacidad de absorción de agua (CAA) y una mayor solubilidad (ISA), lo que indica que la germinación favorece la hidratación de las harinas, en particular, el tratamiento GI-48 h mostró los valores más altos en estas propiedades al compararlo con el tratamiento NG, lo cual sugiere que tiempos prolongados de germinación pueden tener un impacto positivo, debido al incremento en la actividad enzimática. Al hidratar las harinas sin embargo a su vez se nota una disminución para el poder de hinchamiento en función al tiempo de germinación, y no se observó diferencia estadísticamente significativa sobre la capacidad de absorción de aceite (CAAc). Los cambios estructurales observados en el almidón a través de microscopía electrónica de barrido (SEM) y difracción de rayos X (XRD) revelaron una mayor porosidad en los gránulos de almidón y un incremento en la actividad amilolítica, en especial

en los tratamientos GI-48 h. Estos resultados sugieren que la degradación de la estructura cristalina, observada como una disminución en la cristalinidad, está relacionada con alteraciones en la ramificación del almidón.

En cuanto a las propiedades reológicas, se observó que las masas elaboradas con harinas germinadas presentaban una menor resistencia a la extensión y presentaban mayor extensibilidad. Este efecto fue más pronunciado en el tratamiento GI-12 h, probablemente debido al debilitamiento de la red de gluten por la actividad enzimática. Este debilitamiento también se reflejó en el análisis de perfil de textura (TPA), donde se observó una disminución en la dureza, masticabilidad, resiliencia y elasticidad de los panes. Sin embargo, a pesar de estas características mecánicas irregulares, los panes elaborados con harinas germinadas, especialmente los del tratamiento GI-48 h, mostraron un incremento significativo en el volumen específico.

La digestibilidad de las proteínas aumentó significativamente con la germinación, alcanzando su punto máximo con el tratamiento GI-48 h. Este incremento indica que la germinación favorece la disponibilidad de las proteínas en el pan, lo cual es un beneficio importante desde el punto de vista nutricional, haciendo del pan un alimento más funcional y saludable.

I. INTRODUCCIÓN

Los cambios en las dinámicas poblacionales han generado que el consumo de alimentos experimente una transición significativa sobre su calidad y cantidad; ha incrementado el interés en productos con un alto valor nutricional. No obstante, las brechas económicas han limitado el acceso a una alimentación adecuada para los sectores más vulnerables de la población mundial. Según un informe de la FAO, (2022), cerca del 29.2% de la población mundial experimentó escasez constante de alimentos de forma moderada a grave, identificando al menos 900 millones de personas con un grado de inseguridad alimentaria severa.

El trigo es un alimento crucial para la seguridad alimentaria por su aporte calórico y bajo costo, teniendo un consumo mundial de entre el 25 y el 40%, sin embargo en los últimos años ha surgido una creciente preocupación sobre su efecto en la salud asociado al consumo de alimentos derivados de trigo, lo que en consecuencia ha generado una tendencia a la adopción de dietas libres de trigo o sin gluten (Shewry & Hey, 2016), aunado a lo anterior es un alimento con deficiencias nutricionales, la proteína de trigo es carente de aminoácidos esenciales como lisina y treonina; además, es una fuente que contiene inhibidores nutricionales como el ácido fítico y taninos (Kaur & Gill, 2020; Siddiqi *et al.*, 2020).

Estrategias actuales sugieren mejorar la calidad nutricional de alimentos derivados del trigo mediante diversos enfoques como: (1) El aprovechamiento de la fibra y minerales a través de la sustitución de harina refinada por harina integral (Gómez *et al.*, 2020), (2) La obtención de harinas compuestas a través de la combinación de harinas de trigo con otras fuentes alimentarias (Wang & Jian, 2022) y (3) La alteración de los biopolímeros del grano a través de la germinación (Dapčević-Hadnađev *et al.*, 2022).

La germinación ha sido utilizada desde hace cientos de años para mejorar la textura de granos comestibles y potenciar el valor nutricional de cereales y legumbres (Singh *et al.*, 2015). En los últimos años ha surgido como una alternativa que pretende mejorar de forma natural, inocua y económica la composición de los

granos. Diversos autores han reportado modificaciones nutricionales favorables en el trigo; como aumento en la concentración de polifenoles (Tomé-Sánchez *et al.*, 2020), ácido gamma-aminobutírico (Baranzelli *et al.*, 2018), fibra dietética (Van Hung *et al.*, 2015) proteínas con un mayor valor biológico (Sibian *et al.*, 2017), así como una mayor bio-accesibilidad de minerales derivado de la reducción del ácido fítico (Lemmens *et al.*, 2021), reducción en la presencia de inhibidores enzimáticos (Singh *et al.*, 2015) y disminución en el contenido de oligosacáridos, disacáridos, monosacáridos y polioles fermentables (FODMAPs) (Nyyssölä *et al.*, 2020)

El consumo actual de granos muestra una creciente diversificación en productos derivados, destacando la participación en el mercado, los siguientes alimentos: botanas (22%), harinas (19%) y productos de panadería (15%) (Pagand *et al.*, 2017).

Sin embargo, la germinación no es un método ampliamente utilizado en la industria, principalmente porque los cambios químicos del trigo producen un efecto negativo sobre la reología de masas utilizadas para productos de panificación, remarcando las siguientes causas: (I) Se ve disminuida la capacidad del gluten para formar una red viscoelástica, lo que en consecuencia genera el debilitamiento de la estructura formada por la glutenina de alto peso molecular, produciendo una menor tenacidad, e incrementando la extensibilidad de la masa, y (II) Las propiedades térmicas y empastado del almidón pueden verse modificadas por la degradación amilolítica durante la germinación (Richter *et al.*, 2014; Žilić *et al.*, 2016).

A través de distintos estudios se ha concluido que, para poder obtener productos germinados de alta calidad, es requerido hacer ajustes en el proceso de germinado, al buscar las condiciones que permitan un mejor desarrollo de la semilla con alternativas tecnológicas que reduzcan los riesgos microbiológicos asociados a los brotes; sin sacrificar el perfil nutraceutico demostrando que es posible producir compuestos bioactivos de forma efectiva (Baranzelli *et al.*, 2018; Benincasa *et al.*, 2019).

Por lo tanto, es una necesidad lograr un equilibrio perfecto entre ventajas nutricionales y rendimiento tecnológico, todo esto sería alcanzable a través de una germinación controlada (Marengo *et al.*, 2017).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el impacto de la germinación sobre las características estructurales, tecno-funcionales, reológicas y de digestibilidad en panes elaborados con harinas obtenidas a partir granos germinados de *Triticum aestivum* en distintas condiciones de tiempo, así como estudiar la interacción de las mezclas.

II. ANTECEDENTES

2.1. El trigo

El nombre del género del trigo, *Triticum*, deriva del vocablo latino “tero” (trillo), *Triticum aestivum* es el nombre científico para el trigo harinero, conocido por ser una variante de trigo hexaploide que contiene tres conjuntos de genomas, denominados A, B y D, distinguiéndolo del trigo duro tetraploide (*Triticum durum*); actualmente *Triticum aestivum* es la variedad más extendida en el mundo, esta especie es el resultado de un cruce entre *Aegilops tauschii* var. diploide (DD) y un trigo alotetraploide (AABB) hace aproximadamente 8000 años (Khalid *et al.*, 2023).

El trigo pertenece a las 300,000 especies vegetales comestibles por el ser humano. Sin embargo, de este espectro, solo 100 especies se siembran de forma habitual en el mundo. Entre las especies vegetales de mayor prevalencia agrícola encontramos al arroz, maíz y trigo (Reynolds & Braun, 2022).

Triticum aestivum es una planta gramínea anual predominantemente autógama, es miembro de la tribu *Triticeae*, (Levy & Feldman, 2022). El grano de trigo es considerado un fruto de una sola semilla o cariósido, conformado por tres segmentos, diferenciados estructural y químicamente entre sí (Figura 1):

1. **El endospermo** (80-85%) constituido principalmente por almidones embebidos en una matriz proteica, siendo la glucosa el glúcido predominante en esta región (96%), y teniendo un contenido restante de arabinosilanos (Barron *et al.*, 2007; Gebruers *et al.*, 2008). Esta región se encarga del abastecimiento energético a la planta durante el crecimiento, realizado a través de la hidrólisis de las sustancias de almacenamiento (Khalid *et al.*, 2023).
2. **El germen** (2.5-3%) está dividido en dos partes, el eje embrionario (una raíz rudimentaria) y el escutelo, su composición es relativamente rica en proteínas, lípidos, azúcares, así como en vitaminas, minerales y tocoferoles. Los azúcares predominantes son la glucosa y rafinosa. (Grundas, 2003; Rosa-Sibakov *et al.*, 2015)
3. **El pericarpio** (13-17%) está estructura rodea al endospermo desde el interior hacia las regiones externas, contiene células ricas en proteínas (Khalid *et al.*, 2023). Su principal función es proteger el tegumento de la cariósida de daños externos, se considera también el principal componente durante la etapa de desarrollo temprano de la cariósida (Zhuo *et al.*, 2023)

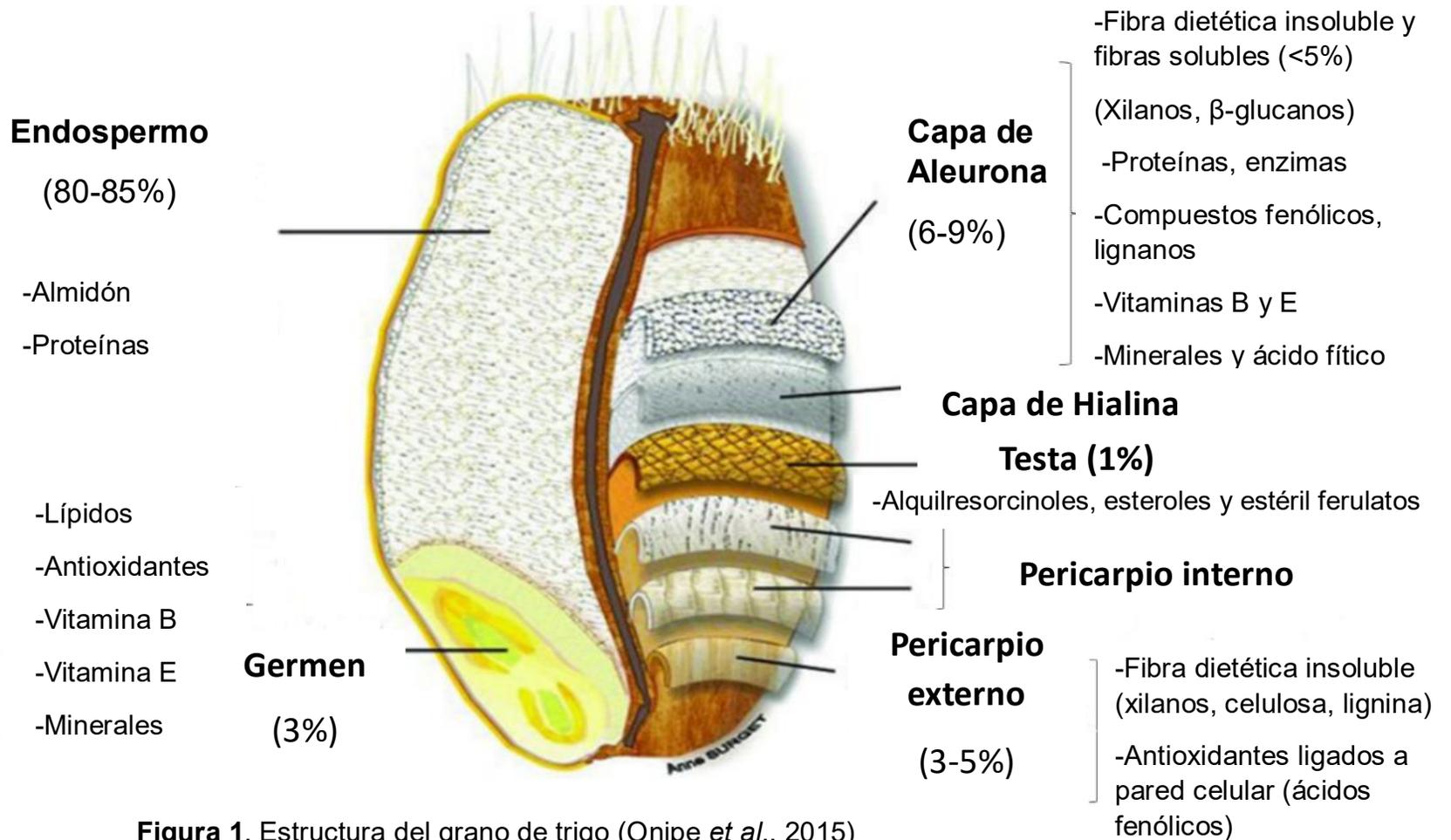


Figura 1. Estructura del grano de trigo (Onipe *et al.*, 2015)

2.2. La importancia del trigo

El trigo ha tenido un papel clave en la civilización humana desde tiempos remotos, a través de estudios arqueo-botánicos se ha esclarecido su relevancia durante la revolución neolítica. *Triticum monococcum* y *Triticum dicoccum*, las primeras formas domesticadas del trigo se obtuvieron en el sudoeste de Asia, actualmente Turquía, durante el holoceno temprano, hace aproximadamente 12,000 años. Durante ese periodo, los granos se convirtieron en el foco de la alimentación debido a su sabor, alta eficiencia productiva, valor nutricional y la simplicidad con la que podían ser transportados y almacenados (Arranz-Otaegui *et al.*, 2016; Bogaard, 2016).

Hoy en día, el trigo ha encontrado una gran expansión global: no solo es consumido y cultivado en el resto del continente Euroasiático, es uno de los cultivos más importantes del mundo, destinándose principalmente a la alimentación humana en productos como pan, pasta, repostería, cuscús, bulgur y pizza, además es utilizado en la elaboración de cerveza y licores. Asimismo, el grano de trigo y su biomasa verde son destinados para alimentación animal (Katamadze *et al.*, 2023; Roushannafas *et al.*, 2023).

Por lo mencionado anteriormente, el trigo tiene una vasta presencia en la economía del mundo, contando con una participación significativa en el comercio de granos, lo que abarca cerca de un tercio del comercio global (Dadrasi *et al.*, 2023); además, es el cereal más cultivado en el mundo ocupando más de 220 millones de hectáreas plantadas anualmente bajo diversas condiciones climáticas y regiones, lo que representa el 38.8% de la superficie global cultivada. Tiene una amplia demanda en el mercado alimentario al ser el segundo cereal más consumido, y teniendo un consumo per cápita anual de 65.6 kg, con un consumo anual promedio del 37% en cereales (Kinnunen *et al.*, 2020).

El consumo de trigo ha resultado fundamental para la seguridad alimentaria de distintos países, considerado un alimento básico para millones de individuos, otorga el 18% de las calorías dietéticas totales y el 19% de las proteínas del mundo

(Reynolds & Braun, 2022; Shiferaw *et al.*, 2013). Además de ser un excelente proveedor de energía, el trigo ofrece un perfil nutricional diverso con un aporte significativo de lípidos, vitaminas, minerales, fitoquímicos y proteínas. Particularmente las proteínas del trigo resultan de especial relevancia en la nutrición de distintos países, ya que el trigo es considerado una fuente más asequible de proteínas vegetales en regiones donde el acceso a proteínas de origen animal es escaso o costoso (Alomari *et al.*, 2023; Shewry & Hey, 2015).

Las ventajas de trigo ante otros cereales radican en su versatilidad para crear alimentos distintivos, aunado a un creciente consumo vinculado a la industrialización y adopción de costumbres occidentales en distintas partes del mundo. El gluten, una proteína del trigo, es clave para la panificación, repostería y otros ingredientes con funciones específicas, estos alimentos, más fáciles de producir y consumir, son característicos del estilo de vida occidental (Shewry & Hey, 2015).

En la Tabla 1 se identifican los principales componentes del grano de trigo, para producir ingredientes de calidad tecnológicamente adecuada resulta determinante obtener una composición balanceada de sus componentes bioquímicos, destacando principalmente al almidón y proteínas del gluten (gliadina/glutenina), los cuales son los principales responsables de la formación de red de gluten, propiedades de amasado (dureza, viscoelasticidad, extensibilidad, plasticidad, retención de agua, etc.) y las características de cocción (expansión de la masa, crecimiento de burbujas, retención de forma, masticabilidad, dureza, contracción, etc.) (Lin *et al.*, 2019; Oyeyinka & Basse, 2023).

Tabla 1. Composición nutricional del trigo panadero de acuerdo a diversos autores

Fibra %	Almidón %	Proteína %	Lípidos %	Azúcares reductores %	Minerales %	Referencias
10.9-15.4	41.9-60.4	10-5-17.5	0.72-1.11	2.91-5.54	1.45-1.9	(Baranzelli <i>et al.</i> , 2018; Donkor <i>et al.</i> , 2012; Krapf <i>et al.</i> , 2020; Montemurro <i>et al.</i> , 2019; Žilić <i>et al.</i> , 2016)

2.3. Germinación

Es un proceso fisiológico donde ocurren una serie de actividades biológicas y bioquímicas secuenciales para el desarrollo de la semilla, es considerada la etapa más importante del ciclo de vida de las plantas (Parihar *et al.*, 2015; Poudel *et al.*, 2019). Este proceso inicia cuando los granos secos y quiescentes absorben agua de su entorno, lo que lleva a la expansión y elongación del embrión. Cuando la radícula y el coleóptilo logran penetrar las capas de cobertura de la semilla se considera que el grano ha germinado (Dong *et al.*, 2015).

El proceso germinativo en plantas superiores incluye diversos procesos metabólicos, así como fisiológicos, que incluyen la imbibición del agua, un incremento en la tasa de respiración; así como, la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos (Wanasundara *et al.*, 1999). A nivel físico la germinación se observa a través de la ruptura del endospermo, una vez que la radícula rompe el endospermo micropilar, siendo visible la emergencia de las primera raíces en el grano (Bentsink & Koornneef, 2008).

La germinación de las semillas puede ser inhibida por la dormancia, un mecanismo adaptativo utilizado para retrasar la germinación hasta que encuentren las condiciones ambientales óptimas para el desarrollo de la planta. Este proceso asegura que las semillas no germinen prematuramente en situaciones adversas (Shu *et al.*, 2016; Yao *et al.*, 2020). La dormancia influye sobre el tiempo de germinación asegurando que el establecimiento de la semilla y la aptitud de la planta al entorno. La inducción y liberación de la dormancia es regulada a través de distintas variables, como son las hormonas vegetales y proteínas de dormancia. Estos reguladores son, a su vez, afectados por las condiciones ambientales presentes durante la maduración y almacenaje de la semilla (Figura 2) (Née *et al.*, 2017).

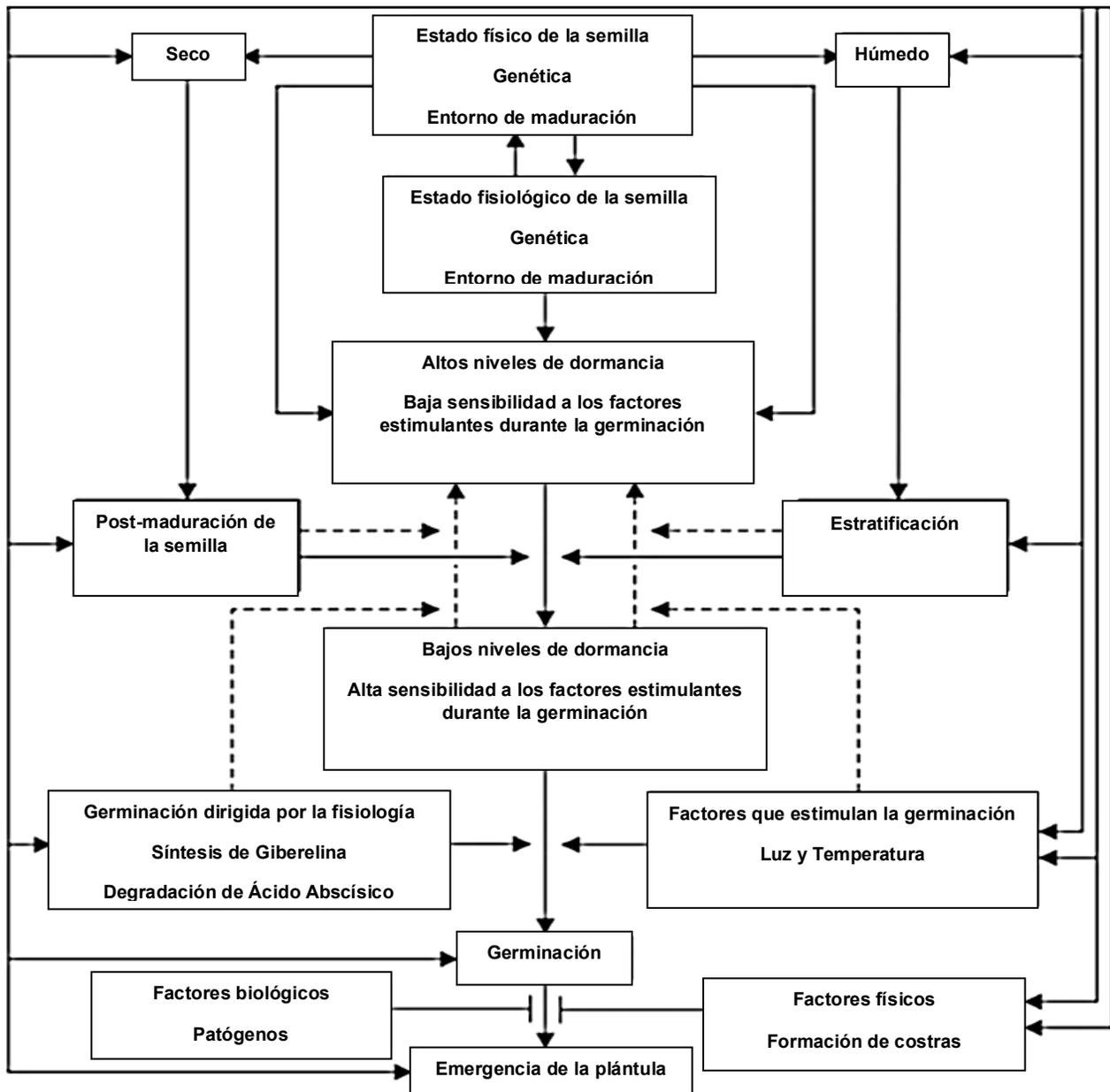


Figura 2. Variables específicas asociadas con las predicciones de la dormancia y la germinación de las semillas. (Allen *et al.*, 2007)

2.4. Factores que impactan sobre la germinación

La dormancia es un mecanismo en el que las semillas pueden inhibir la germinación. Dependiendo la especie vegetal es posible clasificar a la dormancia en cinco tipos: fisiológica, física, combinacional (fisiológica + física) morfológica y morfofisiológica,(Baskin & Baskin, 2003; Willis *et al.*, 2014) siendo la dormancia fisiológica la forma más común en todo el mundo, identificada en gimnospermas y en todos los principales casos de angiospermas. Se ha identificado que el género *Poaceae* (al que pertenece el trigo) posee este tipo de dormancia, la cual es caracterizada por semillas que tienen embriones completamente desarrollados con bajo potencial de crecimiento, a veces en combinación con una restricción mecánica de las capas que cubren a la semilla (Kildisheva *et al.*, 2020).

Para romper con la dormancia la semilla requiere experimentar condiciones ambientales propicias que favorezcan procesos metabólicos, identificando **condiciones extrínsecas**, o también conocidas como factores abióticos, lo cuales son los requerimientos del entorno al que se expondrá la semilla previo a su activación y desarrollo (como luz, temperatura, contenido de agua, oxígeno). Y las condiciones **intrínsecas**, las cuales involucran factores propios de la semilla como su estado fisiológico, genética, hormonas etc. (Bewley & Black, 1994; Farooq *et al.*, 2022)

La dormancia en semillas es una ventaja evolutiva que beneficia a la supervivencia de individuos vegetales a largo plazo hasta que se encuentren condiciones ambientales que favorezcan su desarrollo (Willis *et al.*, 2014).

La germinación de semillas *in vitro* es definida como la incubación de granos a través de condiciones controladas como temperatura, luz y humedad, utilizando distintos medios como agares o papel absorbente, las condiciones establecidas que requieren los granos son específicas a requerimientos ambientales, así como factores fisiológicos inherentes a cada especie vegetal (International Seed Testing Association, 2021).

2.4.1. Condiciones extrínsecas

- a) **Disponibilidad de agua:** Durante la cosecha y almacenamiento el contenido de humedad del grano es generalmente inferior al 25%. Con este porcentaje de humedad la semilla es incapaz de germinar, por lo que la tasa de absorción del agua resulta determinante para el período de tiempo entre el inicio de la hidratación y el inicio de germinación (Josiah *et al.*, 1994). El contenido de humedad mínimo requerido para que los granos de trigo puedan germinar es en un intervalo de 35-45% (Evans *et al.*, 1984; Lemmens *et al.*, 2019)

Una representación útil del proceso de la germinación se ha desarrollado entorno al curso temporal de la absorción de agua por una semilla (Figura 3): La absorción de agua es un proceso trifásico: La fase I consiste en una rápida imbibición inicial hasta que la matriz de la semilla (particularmente el embrión y el escutelo) y el contenido celular se encuentren completamente hidratado, para el trigo puede tardar entre 5 y 7 horas. Posteriormente ocurre la fase II también conocida como meseta, la cual involucra una absorción limitada de agua debido a la reactivación metabólica, y durante la Fase III, se observa un incremento inicial y breve en la absorción de agua, lo cual coincide con el término de la germinación, aunque este aumento es relativamente bajo en términos proporcionales. Luego de este ligero aumento en el contenido de agua, se produce una absorción mucho más significativa a medida que las células de la radícula en crecimiento, y posteriormente el resto de la plántula, experimentan crecimiento celular debido a la división celular mitótica y la expansión celular (Bewley, 1997; Lev & Blahovec, 2017; Manz *et al.*, 2005). La absorción de agua esta influenciada por condiciones como la permeabilidad de la cubierta de la semilla, la concentración de solutos en el agua, así como la composición del grano, ya que la proteína es el principal absorbente de agua, por lo que los granos con mayor contenido de proteína pueden llegar a absorber más agua (Elliot *et al.*, 2022; Ikram *et al.*, 2021).

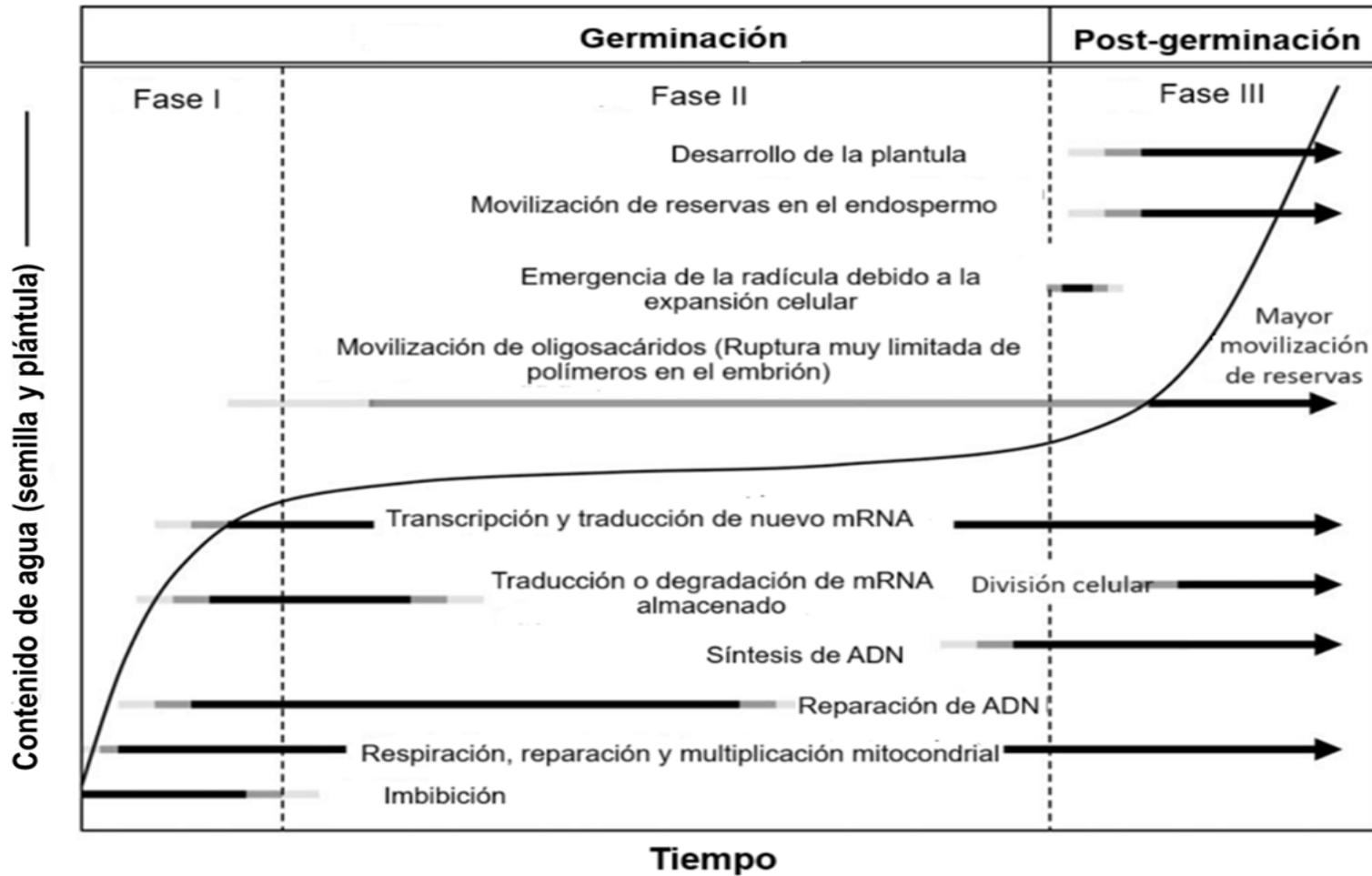


Figura 3. Curso Temporal de los principales acontecimientos asociados con la germinación y el crecimiento post-germinativo (Nonogaki *et al.* (2010))

Tras la absorción de agua hay un aumento en la actividad metabólica de la semilla, observándose también cambios en la estructura celular y enzimática, ocurriendo así ruptura, traslocación y la consecuente movilización de las sustancias del endospermo (Abido & Zsombik, 2018).

Entre las funciones que tiene el agua durante la germinación están: suministrar oxígeno disuelto, hidratar procesos ocurridos en el protoplasma y modificar la textura de la capa externa obteniéndose así una mayor permeabilidad al ambiente (Khaeim *et al.*, 2022; Ozden *et al.*, 2021).

- b) **Temperatura:** Este factor impacta sobre la regulación de la dormancia y la velocidad de germinación (Allen *et al.*, 2007), por lo que el tiempo de germinación pueden extenderse al exponerse a temperaturas bajas, y la latencia tiende a retrasarse debido a las temperaturas bajas experimentadas previo a la floración de la planta madre (Zou *et al.*, 2019). La importancia de la temperatura durante la germinación es establecido a través de una escala que identifica tres temperaturas cardinales: **temperatura base, óptima y máxima**, para que pueda llevarse a cabo la germinación (Alvarado & Bradford, 2002; Ostadian Bidgoly *et al.*, 2018).

En condiciones de bajas temperaturas (10 °C) la dormancia se rompe en semillas recién cosechadas. Las temperaturas intermedias (20 °C) facilitan la expresión de distintos genotipos de especies vegetales; y las altas temperaturas (30 °C) solo permite a las semillas con niveles de dormancia muy bajos desarrollarse; llegar a temperaturas muy elevadas (40-45 °C) lleva a la muerte celular y embrionaria, restringiendo el proceso normal de la germinación, y resultando con un porcentaje de germinación de sólo el 12% debido a la muerte celular (Nyachiro *et al.*, 2002).

Entre los daños que acarrear las altas temperaturas se encuentra la desnaturalización de proteínas, daño a las membranas celulares, inactivación de enzimas en los cloroplastos y mitocondria, y pérdida de la integridad estructural de las membranas celulares (Zabihi-e-Mahmoodabad *et al.*, 2011).

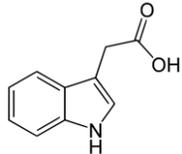
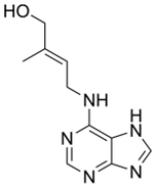
La temperatura más alta para obtener un buen porcentaje de germinación es 25 °C, ajustar la germinación a esta temperatura específica permite reducir tiempo que tardan las semillas en germinar es reducido de forma sustancial, este fenómeno está asociado a una mayor movilidad por parte de las reservas del endospermo. Cabe mencionar que la temperatura óptima para la tasa de germinación suele ser más alta para lograr el porcentaje máximo de germinación observado en poblaciones de semillas con una dormancia parcial (Sharma et al., 2022).

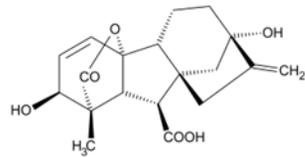
- c) **Luz:** juega un papel crucial en la regulación de varios procesos fisiológicos en las plantas como el proceso de anthesis, el fototropismo y la germinación/dormancia de al menos el 80% de las especies vegetales. Sin embargo, la luz no se considera un factor determinante para romper la dormancia en semillas de trigo, al ser considerada como una especie no fotoblastica, lo que significa que la luz no es clave para liberarlo al grano de la dormancia (Baskin & Baskin, 2004). Los granos de cereal germinan bien tanto en condiciones de luz como de oscuridad, no observando un afectación sobre la floración del trigo (Ikram *et al.*, 2021)

2.4.2. Condiciones intrínsecas

- a) **Regulación hormonal:** Las plantas regulan su crecimiento y desarrollo con el propósito de responder y adaptarse a estímulos internos y externos (Sedaghat *et al.*, 2017) por lo que durante la germinación las plantas se encargan de producir moléculas de señalización, las cuales se diferencian por su estructura química y su acción fisiológica, entre sus funciones está la de regular el desarrollo de las plantas, ser mensajeros químicos para la comunicación entre células, tejidos y órganos (Miransari & Smith, 2014). Estas fitohormonas se conocen como auxinas, citoquininas (CK), giberelinas (GA), ácido abscísico (AGA), etileno (ET), ácido salicílico (SA), jasmonatos (JA), brasinoesteoides (BR) y estrigolactonas. Se ha descubierto que cada uno desempeña un papel en las respuestas que tiene la semilla frente a entornos hostiles durante su crecimiento (Wani *et al.*, 2016). Las funciones de estas hormonas son explicadas brevemente en la Tabla 2.

Tabla 2. Principales fitohormonas involucradas durante la germinación

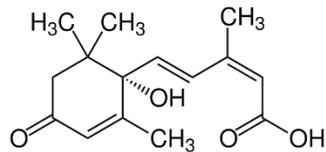
Fitohormona	Definición	Función
 <p data-bbox="348 688 474 716">Auxinas</p>	<p data-bbox="646 407 1241 662">Químicamente identificado como ácido indol-3-acético, son un grupo de fitohormonas sintetizadas principalmente en las partes jóvenes de las plantas, (Gomes & Scortecci, 2021).</p>	<p data-bbox="1262 407 1934 878">Influye en las respuestas frente el estrés abiótico y biótico de las plantas Tiene un papel menor en la inducción de la dormancia en semillas, ya que estimula la señalización del ABA, alterando la proporción de ABA/GA (Matilla, 2020). En el caso del trigo demora el proceso de germinación de las semillas y previene la brotación precosecha. (Shuai et al., 2017).</p>
 <p data-bbox="310 1206 510 1239">Citoquininas</p>	<p data-bbox="646 906 1241 1214">Son moléculas señalizadoras derivadas de la adenina caracterizadas por tener una cadena lateral en la posición 6 involucradas en todas las etapas de germinación de semillas (Miller <i>et al.</i>, 1955; Wani <i>et al.</i>, 2016).</p>	<p data-bbox="1262 906 1934 1214">Pueden liberar a las semillas del estado de dormancia, por lo que se consideran también como antagonistas del ABA. Ayudan en la adaptación frente a entornos con poca humedad, mejorando la dominancia apical y la apertura estomática (Wani <i>et al.</i>, 2016).</p>



Giberelinas

Es un amplio grupo de ácidos carboxílicos diterpenoides tetracíclicos 6-5-6-5 involucrados en los ciclos de crecimiento de semillas (He *et al.*, 2020).

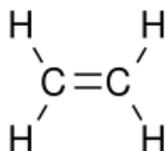
Liberan del estado de dormancia a las semillas. Inicia la señalización que resulta en la síntesis de α -amilasas y otras enzimas hidrolíticas con el propósito de escindir el material del endospermo (Vishal & Kumar, 2018).



Ácido abscísico

Es un isoprenoide producido durante la ruta del metil-D-eritol-4-fosfatoplastidal. Influye en varios procesos fisiológicos y de desarrollo (Sreenivasulu *et al.*, 2010).

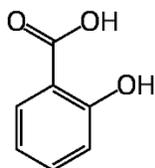
Influye en diversas etapas de desarrollo de las plantas, principalmente durante la dormancia y el desarrollo de semillas, así como en la apertura de los estomas, la morfogénesis del embrión y la síntesis de lípidos y proteínas de almacenamiento (Sreenivasulu, Radchuk, Alawady, Borisjuk, Weier, Staroske, Fuchs, *et al.*, 2010).



Etileno

Es un derivado del aminoácido L-metionina vía SAM y del ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC). Es una fitohormona de bajo peso molecular altamente volátil; comparado con el resto de fitohormonas este tiene la estructura bioquímica más sencilla lo que le permite difundirse a través de las membranas celulares con gran facilidad (Arteca & Arteca, 2008; Wink, 1997).

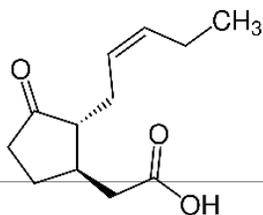
El etileno tiene un rol antagonista para controlar el crecimiento y desarrollo de semillas. Desempeña un papel importante ante el estrés abiótico y estimula el crecimiento del hipocótilo en la luz y lo inhibe en la oscuridad (Ahammed *et al.*, 2020).



Ácido salicílico

Es un tipo de compuesto fenólico encontrado de forma normal en sistemas vegetales involucrado principalmente en regular la expresión proteica (Miura & Tada, 2014).

Es un inductor de la tolerancia al estrés abiótico de las plantas principalmente con condiciones de alta salinidad (Sedaghat *et al.*, 2017).

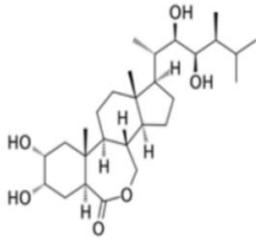


Son fitohormonas de ciclopentona derivadas del metabolismo de ácidos grasos de la membrana. Los de mayor relevancia son el jasmonato de metilo y su

Tienen efecto inhibitorio en la germinación de semillas. Al activar las respuestas de defensa de las plantas pueden mitigar el estrés ambiental como metales pesados, sequía,

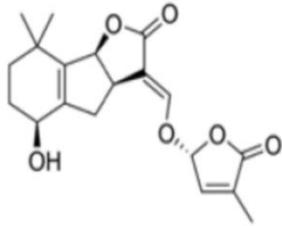
ácido libre: el ácido jasmónico (Pauwels *et al.*, 2009; Wani *et al.*, 2016). salinidad elevada y bajas temperaturas (Pauwels *et al.*, 2009).

Jasmonatos



Es una familia de compuestos que comprende 40 derivados de esteroides polihidroxilados, regulador sinérgico en el antagonismo del GA/ABA frente a los estímulos ambientales (Kim *et al.*, 2019). Promueven la germinación activando genes posteriores de GA e inactivando la señalización ABA Presentan potencial para modular la respuesta antioxidante frente al estrés abiótico de la semilla. Kim *et al.*, 2019; Wani *et al.*, 2016).

Brasinoesteroides



Estrigolactonas

Son una pequeña clase de compuestos derivados de los carotenoides y moléculas de señalización de la rizosfera clasificadas como fitohormonas debido a su intervención durante el desarrollo y germinación de las plantas (Santoro *et al.*, 2020; Sedaghat *et al.*, 2017). Son reguladores clave en la adaptación y desarrollo a condiciones ambientales cambiantes principalmente frente a las sequías, salinidad elevada, da forma a la arquitectura de las raíces en bajas concentraciones de nutrientes (Santoro *et al.*, 2020).

- b) **Disponibilidad de reservas energéticas:** Previo al inicio de la germinación, el grano debe asegurar la disponibilidad de sustancias de reserva como el almidón, proteínas y lípidos; nutrientes disponibles para el embrión de la semilla a través vías específicas facilitadas por la actividad enzimática. Los cuales involucran síntesis y liberación de enzimas. Las giberelinas inducen a las células de la aleurona para que sintetizen enzimas hidrolíticas con el fin de movilizar reservas de granos que impulsen a la germinación, sacando al grano de la dormancia mientras que el ABA pospone o da terminación a estos procesos (Miransari & Smith, 2014).
- c) **Tamaño de la semilla:** Se ha reportado que existe una relación entre el tamaño de la semilla y los parámetros de germinación como porcentaje de germinación, salud de las plántulas, vigor y rendimiento de cultivos de trigo (Shahwani *et al.*, 2014). Un tamaño de semilla uniforme se considera una ventaja para lograr un desarrollo uniforme de las plántulas. Kristó *et al.*, (2023) reportaron una correlación positiva entre el tamaño de la semilla y el porcentaje de germinación, donde las semillas de menor tamaño obtuvieron el menor porcentaje de germinación (89.40%), en contraste con las semillas más grandes tienen el mayor porcentaje de germinación (96.09%)

2.5. Beneficios de la germinación

Tabla 3. Beneficios obtenidos por la germinación bajo distintos tiempos

Condiciones de germinación	Hallazgo	Referencia
Granos colocados en una cámara incubadora a 18 °C en régimen alterno de luz/oscuridad 10:14 h, con una intensidad de luz de 200 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ durante 5 días	El contenido de fenoles totales y la fracción de ácidos fenólicos libres aumentaron.	Benincasa <i>et al.</i> , (2015).
Granos germinados con una humedad relativa del 80% durante 48 y 96 horas en una cámara incubadora a 20 y 25 °C	Tras una germinación de dos días, se observó una disminución del 10% del contenido total de proteína, pero con los valores más altos obtenidos en digestibilidad <i>in vitro</i>	Świeca & Dziki, (2015)
20 gramos de granos fueron colocados en un ciclo de remojo/equilibrio, hasta ser germinados a 25 °C durante 8 días	La germinación indujo una degradación sobre la fracción de gluten vinculada con la celiarquía, reduciendo un promedio de 47% de los péptidos inmunogénicos	Boukid <i>et al.</i> , (2017)
Germinación masiva en planta malteadora, 10 toneladas de trigo fueron germinadas a 20 °C durante 24 y 48 horas	Al evaluar la digestibilidad <i>in vitro</i> del almidón se observaron diferencias significativas en la susceptibilidad del almidón a las enzimas digestivas, encontrando las fracciones de almidón de lenta digestión y de rápida digestión significativamente más bajas y altas respectivamente ($p < 0.05$) tras dos días de germinación	Marti <i>et al.</i> , (2017)
Granos colocados en una cámara incubadora sobre papel absorbente en una caja Petri (400 granos por caja) en oscuridad a 20 °C. Hidratados diariamente por 4 días.	Reportaron que una disminución del 20% en la digestibilidad <i>in vitro</i> del almidón, así como un aumento del 68.3% de potencial almidón resistente obtenido a partir de granos de trigo con 4 días de germinación y al enriquecerlo con polifenoles	Świeca <i>et al.</i> , (2017)

<p>Los granos fueron colocados sobre placas de vidrio revestidas con tela de yute húmeda por 94 h a 28±2°C.</p>	<p>La germinación potenció algunas de las propiedades funcionales de harinas de trigo tras 4 días de germinación. Incrementando la capacidad de absorción de agua y aceite, disminuyendo la densidad aparente y mejorando la capacidad emulsificante y espumante</p>	<p>Sibian <i>et al.</i>, (2017)</p>
<p>Inmersión de granos en un exceso de humedad a 21 °C por lapso de 24 horas.</p>	<p>A través de un panel afectivo se encontró que el pan integral de trigo germinado percibió una disminución de amargor y textura, y preferencia debido a su sabor dulce, sin observarse niveles de azúcar particularmente elevados.</p>	<p>Johnston <i>et al.</i>, (2019)</p>
<p>Los granos fueron colocados sobre bandejas de germinación dentro de una sala de crecimiento controlado a una temperatura de 20 ± 2 °C, y a una humedad relativa de 80 ± 3% a 12 y 24 h.</p>	<p>En panes obtenidos a partir de trigo germinado a 12 horas no se observó que las propiedades funcionales de la proteína fueran fuertemente comprometidas mientras que si proporcionó una alta actividad de alfa-amilasa y una menor tasa de retrogradación del almidón en contraste con la harina comercial.</p>	<p>Peñaranda <i>et al.</i>, (2021)</p>
<p>50 gramos de granos de trigo ceroso fueron remojados en agua destilada 4 veces, y fueron puestos a germinar a una humedad relativa de 85% y a un tiempo de 0, 6, 12, 24, 36 horas.</p>	<p>Tras germinar trigo ceroso en un lapso de 48 horas encontraron un aumento significativo en las fracciones de fibra y minerales. Y la concentración de aminoácidos esenciales como Metionina e Isoleucina fueron más altas durante este período.</p>	<p>Hung <i>et al.</i>, (2012)</p>
<p>5 kilogramos fueron germinados en una maquina germinadora durante 6, 12, 18 y 24 horas a 33 °C.</p>	<p>Reportaron el efecto positivo de la germinación sobre la viscosidad del gel de harina y las propiedades texturales del pan, obteniendo que la viscosidad de la harina de trigo germinado era mucho más alta que la harina de trigo integral normal, y capacidad de absorción de agua más alta (76.6%) en harinas de trigo germinado a 12 horas.</p>	<p>Gao <i>et al.</i>, (2022)</p>

2.6. Modificaciones moleculares durante la germinación

El metabolismo primario ocurrido durante la germinación conlleva a diferentes rutas bioquímicas: la glucólisis, el ciclo del ácido tricarboxílico (TCA), fermentación (como ruta alterna en condiciones de hipoxia), movilización de proteína y almidón, síntesis de aminoácidos (especialmente la vía de la metionina), β -oxidación de ácidos grasos, vía del glioxilato, ruta de las pentosas fosfato, así como la síntesis de ácidos nucleicos (Rosental *et al.*, 2014).

Esta cascada de rutas metabólicas ocurre en el momento de activación del grano y conduce principalmente al catabolismo y degradación de compuestos antinutritivos, macronutrientes, y en alternancia también ocurre la síntesis de distintas sustancias estructurales, así como de metabolitos secundarios. Estas repercusiones tienen un impacto directo sobre el contenido nutricional de los granos (Ikram *et al.*, 2021; Peñas & Martínez-Villaluenga, 2020).

La descomposición de compuestos de reserva como las proteínas, almidón y lípidos por la actividad enzimática sirven para el sostenimiento homeostático y posterior desarrollo del embrión en crecimiento, sin embargo, esta descomposición tiene un impacto sobre la aceptabilidad de determinados ingredientes. En alimentos ricos en almidón, el incremento en la actividad amilolítica puede afectar la reología del almidón, así como sus propiedades térmicas y de cristalinidad. Por otro lado, el aumento de enzimas proteolíticas contribuye a la degradación de proteínas de reserva, disminuyendo así las propiedades de elasticidad/extensibilidad de masas en panificación. Y finalmente el aumento en la actividad lipolítica creando un ambiente de susceptibilidad ante procesos de autooxidación, lo que facilita que se desarrolle rancidez, dando un producto final susceptible a generar sabores indeseables con el tiempo (Ikram *et al.*, 2021; Marti *et al.*, 2017, 2018).

Numerosas enzimas han sido identificadas en distintas fuentes durante la germinación, observándose una consecuente disminución de inhibidores proteicos de proteasas y amilasas de origen vegetal como ácido fítico, taninos y polifenoles,

permitiendo la actividad catabólica originada en las enzimas derivada de la acción enzimática (Shivaraj *et al.*, 1982; Singh *et al.*, 2010).

2.6.1. Proteínas

La germinación influye sobre el contenido de proteínas, dependiendo del tiempo de germinación, las proteínas presentes en el grano pueden aumentar o disminuir dependiendo de la fuente, distintos autores han reportado una modificación en la concentración de proteínas en diversos cereales (Ghavidel & Prakash, 2007; Nkhata *et al.*, 2018; Uppal & Bains, 2012). Las modificaciones en el contenido proteico pueden asociarse a que durante el proceso de germinación, se activan diversas enzimas proteolíticas que producen sustancias de nitrógeno no proteico como los ácidos nucleicos, además en respuesta a la acción de proteasas incrementa el contenido de aminoácidos libres totales, los cuales eventualmente también son requeridos para la síntesis de nuevas enzimas y proteínas estructurales (Moongngarm & Saetung, 2010). En el grano se encuentran todos los componentes necesarios para iniciar nuevamente la producción de proteínas después de que las células absorban agua durante la imbibición. Aunque al principio los ribosomas conocidos como los polisomas no están presentes, en los primeros minutos la rehidratación se observa una reducción en la cantidad de ribosomas individuales; ya que, se agrupan en conjuntos de ribosomas llamados polisomas, que desencadenan la síntesis de la proteína (Bewley, 1997).

Las proteínas almacenadas son degradadas con el propósito de liberar energía y nitrógeno disponible durante el desarrollo de la semilla hasta que el embrión logre un crecimiento autónomo. Por ende, una descomposición proteica regulada es requerida para la distribución exacta de aminoácidos durante las fases tempranas de la germinación de las semillas (Diaz-Mendoza *et al.*, 2019; Rosental *et al.*, 2014). La proteólisis en plantas se considera un proceso complejo que involucra distintas rutas metabólicas, diferentes compartimentos subcelulares y el involucramiento de varios tipos de peptidasas, identificando principalmente proteasas de cisteína, serina, aspártica y metalo-proteasas (Szewińska *et al.*, 2016). De todas las enzimas

involucradas, las proteasas de cisteína (CisProt) son responsables del 90% de la degradación de las proteínas de reserva (Zhang & Jones, 1995).

La liberación de aminoácidos durante la proteólisis permite la biosíntesis de compuestos y la generación de energía (Tan-Wilson & Wilson, 2012). Los aminoácidos inicialmente permanecen en el tejido de almacenamiento, para eventualmente ingresar a un proceso de translocación en los tejidos del eje embrionario en desarrollo con el propósito de ser utilizados en la construcción de proteínas estructurales; así como, en la síntesis de enzimas (Rosental *et al.*, 2014). La liberación de la dormancia en semillas de trigo da como resultado un período de maduración posterior que lleva a cambios en el conjunto de proteínas presentes en la semilla. Estos cambios afectan a proteínas relacionadas con la descomposición de otras proteínas, la comunicación celular, la síntesis de proteínas y la forma en que la plántula utiliza la energía. También influyen en la capacidad de ciertas proteínas para mantener un equilibrio químico adecuado, lo que afecta a procesos relacionados con carbohidratos, energía, aminoácidos, la creación de compuestos químicos secundarios, la gestión de información genética y las defensas antioxidantes (Bykova *et al.*, 2011; Gao *et al.*, 2013).

Al comenzar el proceso germinativo las proteasas almacenadas en el endospermo requieren de una activación previa a la movilización de las proteínas, condicionado a que los sustratos sufran un cambio estructural antes de que las enzimas puedan actuar sobre ellos (Müntz *et al.*, 2001).

2.6.2. Carbohidratos

En la Figura 4 se profundiza sobre las interacciones enzimáticas ocurridas durante la germinación y su efecto sobre los carbohidratos. La germinación promueve la acción amilolítica de los carbohidratos localizados en el endospermo, donde identificamos al almidón como constituyente más abundante, los carbohidratos del trigo pueden ser afectados por distintas enzimas como las glucosidasas, isoamilasas, glucosil-transferasas, y α - y β - amilasas (Wang *et al.*, 2022). Siendo

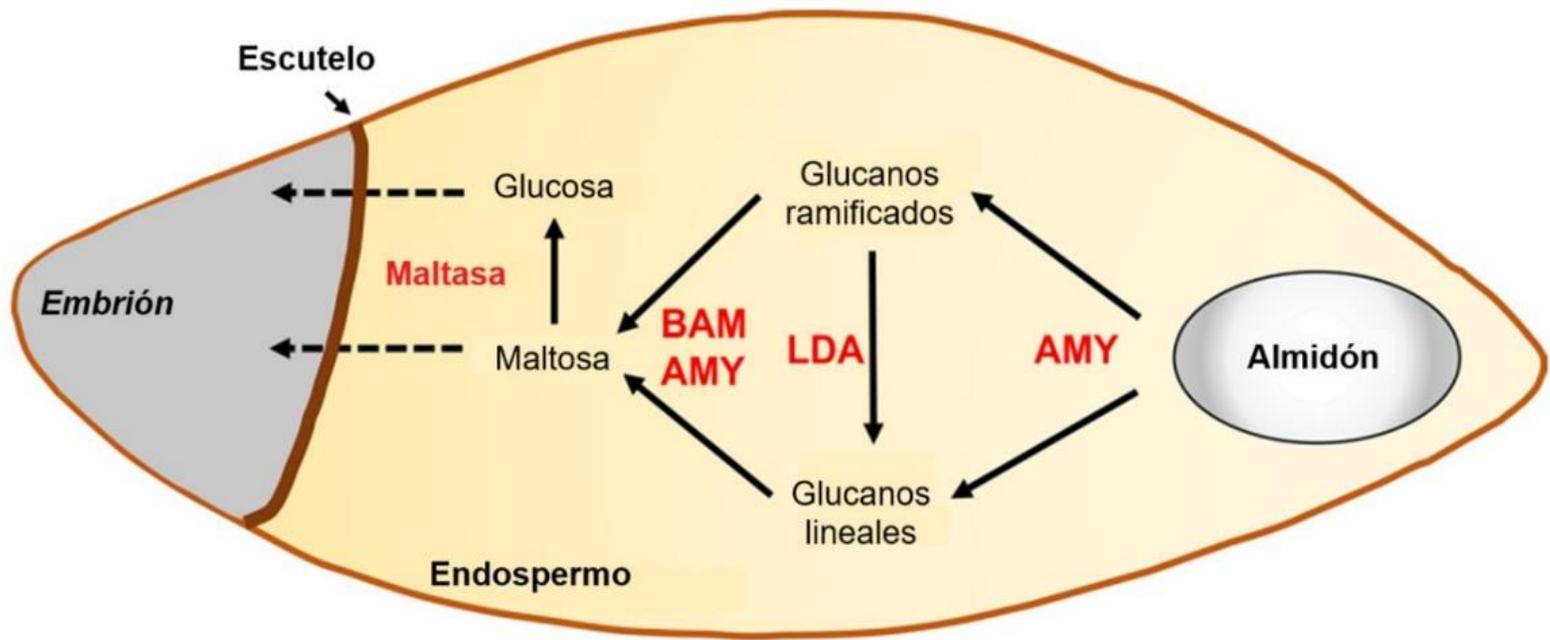


Figura 4. Movilización de las reservas de almidón durante la germinación. El endospermo se considera un tejido inerte, en donde llegan las enzimas degradativas producidas por el embrión. Las enzimas involucradas en este proceso incluyen la β -amilasa (bam), la α -amilasa (AMY) y la α -dextrinasa límite (LDA) (Noronha *et al.* 2018)

la α -amilasa la enzima amilolítica más común y principal encargada de degradar el contenido del almidón en función del tiempo; en consecuencia aumentando la presencia de azúcares simples de forma gradual (Oghbaei & Prakash, 2016; Wang *et al.*, 2022). El rol biológico de las amilasas radica en estimular la movilización del almidón almacenado para proporcionar energía a las plantas jóvenes hasta que se encuentren listas para iniciar la fotosíntesis (Ali & Elozeiri, 2017).

La α -amilasa, también conocida como 1,4- α -d-glucanoglucohidrolasa, es una enzima que forma parte de la familia GH13 de las glucósidos hidrolasas y actúa de manera endoactiva. Su principal función es catalizar la ruptura de los enlaces α -1,4-glucosídicos presentes en el almidón y en otros polisacáridos similares. Como resultado de este proceso, se producen oligosacáridos de diferentes longitudes con configuración α y dextrinas límite α , oligosacáridos que cuentan con ramificaciones (Liu *et al.*, 2023). El proceso posterior de degradación ha sido explicado por Noronha *et al.*, (2018) donde a través de la acción de la dextrinasa límite, los glucanos con estructura ramificada adquieren una configuración lineal. Por acción de las β -amilasas los glucanos libres van perdiendo unidades de maltosa desde su extremo no reductor. Finalmente, las maltasas que son α -glucosidasas especializadas actúan sobre la maltosa residual. Como resultado de estas actividades enzimáticas se produce glucosa, la cual es esencial para el desarrollo embrionario.

La descomposición de los gránulos de almidón por la α -amilasa es un proceso de tres fases: la difusión de la enzima hacia el sustrato, que es afectada principalmente por la porosidad del mismo; la adsorción enzimática con el almidón y el evento de hidrólisis (Colonna *et al.*, 1992).

Previo al proceso de hidrólisis, el grano debe cumplir con dos condiciones, inicialmente los azúcares simples como la sacarosa van a ser transportados desde la aleurona hasta el embrión presumiblemente para impulsar la aparición de coleorhizas (Aoki *et al.*, 2006), la segunda condición es que el grano debe tener un contenido suficiente de agua, debido a que el estrés hídrico tiende a limitar la

actividad de las amilasas, este fenómeno ya ha sido previamente reportado durante la germinación de semillas de trigo (Ali *et al.*, 2020).

El tiempo al que los granos son sometidos durante la germinación resulta trascendental para comprender las modificaciones a las que se enfrenta una matriz alimentaria. Tal como lo mencionan Zhang *et al.* (2015) el contenido de azúcares reductores en cereales y legumbres no tiene una afectación estadísticamente significativa durante las primeras 12 horas de germinación, sin embargo tras superar ese periodo el contenido de azúcares reductores puede aumentar hasta 20 veces, por lo que se infiere un tratamiento hidrolítico intenso una vez transcurrida la imbibición y germinación prematura de la semilla.

2.7. Condiciones para la germinación *in vitro*

Ya que los granos han pasado por una preselección de calidad y se han limpiado se establecen las condiciones para obtener productos germinados los cuales incluyen tres etapas: el remojo, la germinación y el secado (Elliot *et al.*, 2022).

Durante el remojo, los granos quedan sumergidos en agua por un período de tiempo predeterminado. Este proceso es necesario para hidratar las estructuras del grano antes durante la imbibición. Durante la germinación, los granos son colocados en condiciones controladas de temperatura, luz y esterilidad. La última etapa es el secado, en la que se hace circular aire caliente para reducir riesgo de crecimiento microbiano, ayuda al desarrollo de propiedades organolépticas y detiene el proceso de germinación (Richter *et al.*, 2014).

Aunque se han establecido distintas condiciones controladas de este proceso, no existen condiciones específicas reportadas en la germinación *in vitro* del trigo, en la Tabla 4 se encuentran resumidas las condiciones reportadas por distintos autores.

Tabla 4. Vista general de las distintas condiciones de remojo, germinación y secado de trigo en distintos artículos

Remojo		Germinación				Condiciones de secado	Referencia
Tiempo (h)	Temperatura (°C)	Tiempo (días)	Temperatura (°C)	Equipo	Rociado periódico con agua		
8	33	5	23	Sistema de micro-malteado		Liofilización	Lemmens <i>et al.</i> , (2019)
29	15	5	15				
36	15	2	26				
36	15	2	26			Tratamiento hidrotermal a 40 °C durante 8 h y liofilizado	
Enjuagado	No especificado	1-10	24-28	Bandejas de plástico con pañuelos de papel mojados	☐	Secado a 60 °C durante 18 h	Azeke <i>et al.</i> , (2011)
24	16.5	NS	16.5	Sistema de germinación doméstico	☐	Secado a 50°C durante 25 h.	Montemurro <i>et al.</i> , (2019)

4-5	No especificado	1-3	22	Platos de papel con toallas de papel húmedas	☐	Secado a 40 ° C o 60 ° C durante 12 h	Poudel <i>et al.</i> , (2019)
6	25	NS	25	Bandejas con paños humedecidos	☐	Secado a 50 ° C durante 24 h	Singhornart <i>et al.</i> , (2013)
9	16	0.25-1.5	16	Sistema de micro-malteado		Secado a 60°C durante 10-14 h	Stern <i>et al.</i> , (2021)
		0.25-1.5					
Durante la noche	NS	1.5	NS	Bandejas con paños humedecidos	✓	Secado a 50 ° C durante 24 h	Anjum <i>et al.</i> , (2012)
		1.5					
		1.5					
16	25	1-3	25	Sistema de germinación doméstico	✓	Liofilizado	Egli <i>et al.</i> , (2002)
24	32	1 (Incluido el remojo)	32	Recipiente de germinación		Secado a 60°C durante 3 h	Nagaoka, (2008)

III. JUSTIFICACIÓN

La inclusión de las harinas de trigo en la industria de panificación resulta una estrategia prometedora para incrementar el valor nutricional y la digestibilidad de productos horneados. Sin embargo, las características de calidad de la harina y el pan obtenidos pueden verse fuertemente comprometidos a través de procesos de germinación prolongados, los reportes de literatura científica actual sugieren un período de incubación de cuarenta y ocho horas para obtener un buen perfil nutricional; pero el debilitamiento sobre las moléculas estructurales propias del endospermo puede incidir sobre las propiedades mecánicas del pan. Esto impacta directamente sobre la percepción del consumidor en este tipo de productos. Por lo que es necesario indagar sobre una formulación adecuada con harinas obtenidas de granos germinados logrando un equilibrio entre beneficios nutricionales sin comprometer a las características del pan.

IV. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Evaluar las cualidades técnicas de los granos de trigo panadero que ingresaran al proceso de germinación, obtener una harina y realizar la evaluación de las propiedades techno-funcionales para determinar si son aptas para destinarlas a productos horneados. Así como realizar una determinación de parámetros fisicoquímicos, mecánicos y de digestibilidad de panes elaborados a partir de mezclas de distintas harinas de granos de trigo con tiempos de germinación y sin germinar.

4.2. Objetivos específicos

- Determinar la calidad en los granos de trigo con el propósito de asegurar las cualidades técnicas necesarias para ingresar a un proceso de panificación

- Determinar el efecto de la germinación sobre la integridad estructural del almidón y su posible impacto en la calidad del producto a través microscopía electrónica de barrido y difracción de rayos X
- Determinar la composición química proximal de las harinas de trigo, utilizando distintos tiempos de germinación asegurando que este proceso no comprometa el valor nutricional de los granos
- Evaluar el efecto de la germinación sobre las propiedades tecno-funcionales de las harinas de trigo germinado para determinar que no afecte el proceso de amasado y de panificación
- Realizar pruebas texturales para determinar el efecto de la germinación sobre la extensibilidad uniaxial de las masas obtenidas a partir de las mezclas de granos germinados y sin germinar
- Determinar la digestibilidad *in vitro* de almidón y proteína en los panes obtenidos a través de los ensayos enzimáticos para estimar su impacto en la salud del consumidor
- Evaluar estructura formada de pan a través de pruebas físicas con el fin de asegurar que sea un producto adecuado para el consumo

V. MATERIALES Y MÉTODOS

Los granos de trigo panadero (*Triticum aestivum*) fueron adquiridos a través de la distribuidora GALU S.A. de C.V, a través de internet. Los granos fueron cosechados en el estado de Puebla, México.

. Para la elaboración del pan se utilizó levadura comercial con una composición de hasta >95% de materia seca, seleccionada de *Saccharomyces cereviasae*, que incluía monoesterato de sorbitán y ácido ascórbico, además se adquirieron 3 litros de agua potable marca Ciel, sal comercial marca La Fina (Con una composición de cloruro de sodio, dióxido de silicio, fluoruro de potasio (612-765 mg/kg de sal), yodato de potasio (34-68 mg/kg de sal). Para la prueba de digestibilidad *in vitro* de almidón, se utilizó un kit multienzimático de ensayo para la determinación de almidón total, digestible y resistente en muestras de almidón, plantas y otros

materiales (K-DSTRS 01/22) marca Megazyme International Ireland Ltd. Para la prueba de digestibilidad *in vitro* de proteína de parte del proveedor Sigma Aldrich se adquirieron la Tripsina de páncreas bovino (Polvo liofilizado esencialmente libre de sal, ≥ 9000 unidades BAEE/mg de proteína, quimotripsina (C4129 α -Quimotripsina del páncreas bovino C4129 Tipo II, polvo liofilizado, unidades P40 / mg de proteína) y proteasa (P5147 Proteasa de *Streptomyces griseus* Tipo XIV, P3.5 unidades / mg de sólido. Todos los reactivos utilizados para las pruebas fueron de grado analítico.

Se obtuvieron distintos tratamientos mezclando tres tipos de harinas con fuentes de trigo distintas: (1) No Germinada (NG), (2) Germinación Inducida por 12 horas (GI 12 h) y (3) Germinación Inducida por 48 horas (GI 48 h), las distintas proporciones de harinas se muestran en la Tabla 5. Para la prueba de digestibilidad *in vitro* de proteína de parte del proveedor Sigma Aldrich se adquirieron la Tripsina de páncreas bovino (Polvo liofilizado esencialmente libre de sal, ≥ 9000 unidades BAEE/mg de proteína, quimotripsina (C4129 α -Quimotripsina del páncreas bovino C4129 Tipo II, polvo liofilizado, unidades P40 / mg de proteína) y proteasa (P5147 Proteasa de *Streptomyces griseus* Tipo XIV, P3.5 unidades / mg de sólido. Todos los reactivos utilizados para las pruebas fueron de grado analítico.

Se obtuvieron distintos tratamientos mezclando tres tipos de harinas con fuentes de trigo distintas: (1) No Germinada (NG), (2) Germinación Inducida por 12 horas (GI 12 h) y (3) Germinación Inducida por 48 horas (GI 48 h. con distintas proporciones.

Tabla 5. Proporciones de mezclas para la formulación de distintos panes obtenidos de harina integral de trigo germinado sin germinar

Orden estándar	No Germinado	GI 12 h	GI 48 h	Codificación
	%	%	%	
1	100	0	0	NG
2	0	100	0	12 h
3	0	0	100	48 h
4	50	50	0	NG/ 12 h
5	50	0	50	NG/ 48 h
6	0	50	50	12 h/ 48 h
7	33	33	33	Central

****** GI= Germinación inducida, NG= No Germinado. Muestras 1-3 representan harinas puras (100%), Muestras 4-6 representan mezclas de harinas (50%-50%), 7 representa mezcla de tres tratamientos (33%-33%-33%)

5.1. Perfil de calidad de los granos

Como procedimiento rutinario en la industria de los cereales, los granos de trigo fueron evaluados en cuanto a su calidad para así tener una preselección de materia prima y asegurar un porcentaje de germinación relativamente exitoso, así como asegurar un proceso de panificación efectivo.

5.1.1 Peso de mil granos

Siguiendo la metodología establecida por la International Seed Testing Association (ISTA) en 2019 se procedió a analizar la relación de tamaño de los granos con el peso de estos. Este método implica el conteo aleatorio a mano o mediante una herramienta de conteo, realizando ocho repeticiones con 100 semillas puras en cada una. Posteriormente, las muestras se pesaron en una balanza analítica para cada repetición. Se calcularon la varianza, la desviación estándar y el coeficiente de variación. El peso de mil semillas se obtuvo aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{Peso de mil granos} = \frac{\sum \text{Peso de los replicados de 100 granos}}{\text{Número de replicados de 100 granos}} \times 10$$

Este proceso permitió obtener un valor preciso y representativo del peso promedio de mil granos, esencial para los análisis y evaluaciones posteriores de los granos utilizados en el experimento.

5.1.2 Peso hectolítrico

Este método fue realizado de acuerdo con el establecido por la International Seed Testing Association (2021), utilizando un densímetro de granos se procedió a realizar un prellenado vaciando granos sobre un cilindro de acero inoxidable de capacidad de 1000±3 mL, la finalidad de la medida del prellenado fue la controlar la forma en la que se llena la tolva del grano y poder reducir los errores del operador.

El exceso de granos del cilindro fue retirado cuidadosamente con ayuda de una regla metálica y en forma de zigzag.

Finalmente, el cilindro con los granos fue pesado en una balanza con precisión de 0.001, se registró el peso, y se calculó el peso hectolítrico con la siguiente fórmula:

$$\text{Peso hectolítrico (kg/hL)} = \frac{\text{Peso de los granos (kg)}}{1 \text{ L}} \times \frac{100 \text{ L}}{\text{HL}}$$

Para posteriormente ajustarlo con la siguiente ecuación específica para el trigo:

$$\text{Peso hectolítrico del Trigo (kg/hL)} = 0.1002 m + 0.53$$

Nota: Las ecuaciones proporcionan conversiones matemáticas lineales de gramos por litro a kilogramo por hectolitro

5.1.3. Pretratamiento de desinfección

El pretratamiento de los granos se basó en el método descrito por Montemurro *et al.* (2019) con ligeras modificaciones. Se sumergieron 1.2 kg de muestra en una solución de Hipoclorito de Sodio al 1.25% (P/V), considerando una proporción grano-agua 1:5, las semillas se mantuvieron en reposo durante 30 minutos, posteriormente, se realizó un lavado manual de los granos con agua estéril a 20°C durante 20 minutos para asegurar la eliminación adecuada de los residuos de hipoclorito de sodio y realizando varios enjuagues consecutivos. Al finalizar el último lavado, se enjuagaron los granos hasta obtener un agua de enjuague con un pH de 7 a 7.5.

5.2 Germinación

El procedimiento de germinación se realizó siguiendo los métodos propuestos por Baranzelli *et al.*, (2018) y Kim *et al.* (2018) con ligeras modificaciones. Los granos

desinfectados permanecieron inmersos en agua estéril durante 6 horas a temperatura ambiente (20°C). Tras alcanzar un contenido de humedad del 30-35% el exceso de agua fue drenado y los granos se colocaron de forma uniforme en charolas de plástico estériles sobre una cama de papel absorbente estéril, y cada charola se le adicionaron 40 mL de agua destilada. Las charolas fueron ingresadas en una cámara de incubación marca Precision modelo 818 a una temperatura de 25°C, en condiciones de oscuridad y durante un lapso de 12 y 48 horas. Durante el proceso de germinación, se observó la brotación de los granos en función de la emergencia de la radícula, considerando como germinados aquellos granos en los que la radícula tenía una medida de al menos 1 mm para los granos de 12 horas o lo equivalente a aproximadamente 3/4 de la longitud de una semilla mediana para granos de 48 horas. Una vez transcurrido el tiempo requerido para cada muestra, se realizó un lavado manual de los granos germinados con agua destilada, Finalmente, las muestras fueron sometidas a un proceso de secado en un horno de convección a una temperatura de 50°C durante 25 horas. Este procedimiento permitió obtener granos germinados en condiciones controladas y con una humedad adecuada para su posterior análisis y evaluación.

5.2.1. Porcentaje de germinación

Se tomó una muestra de cien semillas, las cuales se colocaron sobre papel absorbente, posteriormente se les adicionaron 12 mL de agua y se siguieron las condiciones de germinación antes descritas, el número de semillas que desarrollaron radícula fueron contadas. El porcentaje de germinación se obtuvo a partir de la relación entre los granos germinados con respecto al total de granos como lo descrito por (Kaur & Gill, 2021). La determinación fue realizada por triplicado.

$$\% \text{ de Germinación} = \frac{\text{Número granos germinados}}{\text{Total de granos}} \times 100$$

5.3. Molienda

Los granos fueron acondicionados a un contenido de humedad del 15% utilizando agua estéril y se dejaron reposar por 24 horas, de acuerdo a lo propuesto por (Baranzelli et al., 2018); trascurrido el reposo los granos se molieron siguiendo las recomendaciones establecidas por el método AACC 26-10.02. Se determinó la humedad de los granos previo a su ingreso al proceso de molienda mediante el método 44-01.01 propuesto por AACC (2009) de termobalanza. La molienda se realizó mediante un molino ciclónico marca Udy corporations modelo Cyclone Sample Mill, (Boulder, Colorado, Estados Unidos) la harina resultante fue tamizada sobre una malla de alambre de 80, y se almacenó en un recipiente de vidrio a temperatura ambiente para futuros análisis.

5.4 Evaluación de las propiedades funcionales de las harinas

5.4.1. 5.4.1. Capacidad de absorción de agua e índice de solubilidad en agua

La capacidad de absorción de agua se expresa como masa del gel por gramo de materia seca. La determinación de la capacidad de y la solubilidad de la harina se realizaron de manera simultánea.

El índice de absorción de agua se determinó como el peso del gel obtenido por gramo de muestra seca, siguiendo una modificación del método descrito por Elkhalfa & Bernhardt (2010). En tubos de centrifuga de 35 mL se colocó un 1 gramo de muestra, la cual se mezcló con 10 mL de agua destilada. A continuación, se mantuvieron los tubos en agitación constante por 30 minutos y se centrifugaron a 3500 g durante 15 minutos. El sobrenadante se transfirió a una charola de aluminio, posteriormente la charola se colocó dentro de un horno a 120°C hasta la evaporación del agua, el gel restante se pesó y se calculó el índice de absorción de agua a partir de su peso.

Para determinar el índice de solubilidad en agua, la cantidad de sólidos secos recuperados al evaporar el sobrenadante de la prueba de absorción de agua

descrita anteriormente se expresó como porcentaje de sólidos secos en la muestra de 1 g con la siguiente ecuación:

$$\text{ISA} [\%] = \frac{100 \% \times m_{gR}}{E}$$

Donde representan:

ISA= Índice de Solubilidad en Agua

m_{gR} = Masa de residuo seco

E= Peso inicial

El Índice de Absorción de agua se calcula de la siguiente manera:

$$\text{CAA} [\text{g/g}] = \frac{m_{\text{Gel}}}{E - m_{gR}}$$

Donde representa:

CAA= Capacidad de absorción en agua

m_{Gel} = Masa del gel después de centrifugar

m_{gR} = Masa de residuo seco

E= Peso inicial

5.4.2. Capacidad de absorción de aceite (CAAc)

Se determinó según método descrito por Beuchat (1977) con las siguientes modificaciones, en un tubo de centrífuga se colocó 1 g de harina se le añadió 10 mL de aceite de maíz comercial, se agitó por vortex a 20 °C durante 30 s. Posteriormente, se centrifugó a 3000 rpm por 20 min, el sobrenadante se eliminó y la diferencia entre la masa de la muestra antes y después de absorber el aceite, se cuantifico como la cantidad de aceite absorbido. La capacidad de absorción de aceite se determinó dividiendo la cantidad de aceite retenido por la cantidad de

muestra, expresada como sólidos. La capacidad de absorción de aceite se determinó utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Capacidad de absorción de aceite(\%)} = \frac{p_2 - p_1}{p_0} \times 100$$

Donde:

P0= Peso de la muestra

P1= Peso del tubo de centrifuga más la muestra

P2= Peso del tubo de centrifuga más los sedimentos.

5.4.3. Poder de hinchamiento

Se realizó de acuerdo con el método informado por Dossou *et al* (2014). Inicialmente se mezcló 1 g de muestra con 10 mL de agua destilada en un tubo de centrifuga graduado de 15 mL, se mantuvo a 85 °C durante 30 minutos en un baño de agua. Las suspensiones formadas se dejaron en reposo hasta que llegaron a temperatura ambiente para posteriormente centrifugar las muestras a 3000 rpm durante 15 min utilizando una centrifuga.

El cálculo del poder de hinchamiento se realizó utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Poder de hinchamiento (\%)} = \frac{\text{Peso de la pasta}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

5.5. Análisis químico-proximal

Para comprender la composición de los granos y los subsecuentes cambios asociados al proceso germinativo es que se realizaron los análisis proximal: todos los métodos fueron extraídos de las recomendaciones propuestas para la AACCC, para proteína fue de acuerdo al método 46-11.02 (AACCC, 2000), contenido lipídico 30-10.01 (AACCC, 2000), contenido total de fibra 32-45.01 (AACCC, 2000), cenizas

08-01.01 (AACC, 2000), humedad 44-01.01 (AACC, 2000) y la fracción de carbohidratos fue determinada mediante la diferencia en el total de la composición de las harinas obtenidas.

5.6 Propiedades reológicas

5.6.1. Extensibilidad uniaxial

La técnica aplicada basó en el método descrito por Kieffer *et al.*, (1998) utilizando un medidor de textura Brookfield modelo CT3-4500 equipado con un dispositivo Kieffer de extensibilidad de masa y gluten.

Se mezclaron 8 gramos de harina con 5 mL de agua destilada para formar masas que se colocaron sobre el aditamento SMS/Kieffer. La muestra fue colocada sobre el accesorio, extendiéndose la masa en un molde, colocando aceite mineral sobre la superficie para evitar problemas de adherencia. Se presionó, y se mantuvo en reposo durante 30 minutos para la formación y compactación de las bandas de masa. Después de este período, las bandas fueron retiradas con una espátula para evitar que estas se rompieran.

Se colocó cada banda sobre la sonda TA53 del texturómetro, ajustado a una velocidad constante a 0.5 mm/s hasta romperse, de acuerdo con las recomendaciones establecidas con el método para extensógrafos 54-10.01 (AACC, 2009).

5.7 Microscopía Electrónica de Barrido

Para la determinación de la morfología de gránulos de almidón y presencia proteica se utilizó el método reportado por Paredes-López *et al.*, (1969). Las muestras de harina se fijaron a una cinta conductora de cobre adhesiva de doble cara, cubierta con una capa de carbón de 20 nm. La muestra se recubrió con una capa de oro de 50 nm en un ionizador de metales (JEOL, Tokio, Japón). El procedimiento se observó en un microscopio electrónico de barrido (JSEM 35CX, Japan Electronic Optical Limited) y se registró fotográficamente.

5.8. Elaboración del pan

Los panes fueron elaborados de forma aleatorizada, utilizando el método optimizado de elaboración de pan con masa recta (10-10.03) (AACC, 2009) con algunas modificaciones. La fórmula de los panes consistió en harina de trigo integral (100 g), levadura (1.8 g), sacarosa (6 g), NaCl (1.5 g) y agua (67 mL). El proceso estuvo condicionado a un amasado manual durante 8 minutos, la masa mantuvo una temperatura de 23-25°C durante el amasado.

Posteriormente se realizó un cortado manual de la masa, tomando porciones de 200 gramos, la masa se colocó en un recipiente de plástico a temperatura ambiente (25 °C) durante un período de 35 minutos. Una vez transcurrido el tiempo, la masa se amasó nuevamente, para ingresar a fermentación durante 17 minutos, este ejercicio de amasado se realizó una vez más para colocar en fermentación nuevamente por 8 minutos. Para finalmente ingresar al horno de convección forzada previamente precalentado a una temperatura de 180 °C durante 24 minutos y enfriado durante 1 hora a temperatura ambiente.

5.10. Pruebas de pan

5.10.1 Volumen específico

Este parámetro fue medido mediante el método 10-05 de la (AACC, 2009) en el que se determina el volumen específico del pan a través del desplazamiento de semillas. La determinación se realizó colocando la muestra de pan previamente pesado sobre un cilindro graduado en el que previamente ya se habían colocado las semillas de colza hasta un volumen de 1000 mL. El volumen desplazado en la probeta obtenido al agregar al pan permite calcular el volumen ocupado del pan.

El volumen específico fue expresado mediante:

$$\text{Volumen específico (cm}^3\text{/g)} = \frac{\text{Volumen del pan (cm}^3\text{)}}{\text{Peso del pan (g)}}$$

5.10.2. Análisis de Perfil de textura (TPA)

Para evaluar las propiedades mecánicas del pan se llevó a cabo el TPA (análisis de perfil de textura), cuya función es la simular el proceso de masticación de dientes humanos mediante una prueba de doble compresión y medido a través de una sonda mecánica.

El perfil de textura del pan se realizó de acuerdo a lo propuesto por (Li *et al.*, 2021), utilizando un analizador de textura TA-XT Plus (Stable Micro Systems, Goldalming, Reino Unido) equipado con una sonda cilíndrica P/36 R. Para la prueba se hornearon panes con un altura promedio de 32 mm. El analizador se configuró en modo TPA contemplando los siguientes parámetros: velocidad previa a la prueba 1,0 mm/s, nivel de deformación de hasta el 50%, intervalo de tiempo de deformación de 5,0 s, tipo de disparo de AUTO, fuerza de inducción de punto de partida de 5 g, velocidad de adquisición de datos a 200 pps. Los valores obtenidos a partir de la curva generada fueron: dureza, elasticidad, cohesividad, masticabilidad y resiliencia.

5.10.3. Digestibilidad de proteína *in vitro*

La determinación de digestibilidad *in vitro* de las proteínas fue mediante un método de caída de pH utilizando una mezcla de tres enzimas (tripsina-quimotripsina-peptidasa o tripsina-quimotripsina-proteasa) basado en el protocolo establecido por Hsu *et al.*, (1977) con consideraciones adicionales como las establecidas por Tinus *et al.*, (2012)

Las muestras de pan se molieron hasta obtener un polvo fino que pudiera pasar a través de una malla de 80. Se pesó una muestra con lo equivalente a 62.5 mg de proteína y se disolvió con 10 mL de agua Mili-Q a 37 °C durante una hora hasta obtener una suspensión acuosa de proteína. Posteriormente se ajustó el valor de pH a 8.0 con NaOH y/o HCl 0.1 M mientras se mantenía a agitación constante a una temperatura de 37 °C en un baño de agua. A continuación, se agregaron 10 mL solución de multienzimas (16 mg de tripsina, 31 mg de quimiotripsina y 13 mg de peptidasa/mL) y se mantuvo en un baño de hielo y se ajustó a un pH 8.0, la solución

de multi-enzimas se preparó fresca el día del análisis a 37 °C. Luego de la rehidratación, se mezcló 1 mL de la solución multienzimática con la muestra de 10 mL, y se registró periódicamente el pH de la digestión por intervalos de 15 minutos utilizando un medidor de pH programable. La característica distintiva de la digestión fue una reducción en el pH que ocurrió 10 minutos después de adicionar solución enzimática. Se determinó la digestibilidad *in vitro* de la proteína se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$\text{DPIV}=65.55+18.10 \Delta\text{pH}_{10\text{min}}$$

Donde $\Delta\text{pH}_{10\text{min}}$ es el cambio de pH en 10 min desde el pH inicial de alrededor de 8.0

5.10.4. Digestibilidad de almidón

El pan fue triturado en varios pedazos para simular así la masticación (tamaño de partícula inferior a 0.9 cm) y se trató como lo informan Marti *et al.* (2018). La digestibilidad fue determinada a través del método descrito por Englyst *et al.*, (1992) con ligeras modificaciones, se determinaron las fracciones de almidón de digestión rápida (dentro de los 20 minutos de la incubación), almidón de digestión lenta (entre 20 y 120 minutos de incubación) y almidón resistente (fracción no digerida a un período mayor a 240 minutos), mediante el kit enzimático K-DSTRS 01/22 (Megazyme International Ireland Ltd)

Para el acondicionamiento inicial se humectó 1 gramo de muestra con 1 mL de solución acuosa de etanol al 95% (V/V), se agregaron 35 mL de tampón de maleato a cada tubo, se colocaron los tubos en un baño de agua en agitación a 170 rpm manteniendo a una temperatura de 37 °C por 5 minutos.

Una vez transcurrido el tiempo, se agregaron 5 mL de una solución enzimática conformada por amilasa pancreática y amiloglucosidasa, para mantener en incubación a 37 °C durante 5 minutos con una agitación de 170 rpm.

Se monitoreó la incubación tomando alícuotas de 1 mL al tiempo 20, 120 y 240 min y se colocaron en tubos de ensayo separados. Posteriormente se mezclaron 2 mL

se solución de muestra con 20 mL de ácido acético 50 mM, para ingresarlo a centrifugación 13,000 rpm por 5 minutos

Se transfirieron alícuotas de 0.2 mL a tubos de ensayo a los que se les agregó 0.2 mL de amiloglucosidasa diluida (100 U/ mL), se mezclaron consistentemente e incubaron a 50 °C durante 30 minutos. Después del tiempo de incubación se agregaron 3 mL de una solución GOPOD (glucosa oxidasa/ peroxidasa y 4-aminoantipirina) por 20 minutos a 50 °C. Después se midió la absorbancia de las muestras y de los estándares de glucosa a una longitud de onda de 510 nm en un espectrofotómetro.

Para la determinación de almidón resistente se removieron 4 mL de la suspensión en agitación tras 240 minutos para transferirlo a una solución de etanol al 95% (V/V), y homogenizando el contenido para después ingresarlo a centrifugación a 4000 rpm por 10 minutos para remover inmediatamente el sobrenadante y re-suspender el material sedimentado en una solución acuosa de 2 mL de etanol al 50% (V/V) y fue mezclado con un vórtex. Después se agregaron otros 6 mL de solución acuosa de etanol al 50% (V/V) este procedimiento se llevó a cabo por duplicado.

Con un agitador magnético se mezclaron 2 mL de NaOH 1.7 M agitando por 20 minutos en un baño de hielo. Trascurrido el tiempo se añadieron 8 mL de acetado de sodio 1.0 M (pH 3.8) y 0.1 mL de amiloglucosidasa (3300 U/mL) mezclando vigorosamente con un vórtex y colocando la solución resultante en un baño de agua a 50 °C para posteriormente incubar durante 30 minutos con un mezclado intermitente.

Finalmente se transfirió 0.1 mL de los sobrenadantes a tubos de ensayo de vidrio, agregando 0.1 mL de solución tampón de acetato de sodio 100 mM (pH 4.5) y 3.0 mL solución GOPOD (glucosa oxidasa/ peroxidasa y 4-aminoantipirina).

Incubando a 50 °C durante 20 minutos para después ingresar los estándares de glucosa y las muestras a un espectrofotómetro a una absorbancia de 510 nm.

La digestibilidad de cada formulación fue determinada a través de las siguientes ecuaciones:

$$\text{Almidón total} = \frac{GT - GL \times 0.9 \times 100}{P}$$

$$\text{Almidón de digestión rápida (ADR)} = \frac{G20 - GL \times 0.9 \times 100}{P}$$

$$\text{Almidón de digestión lenta (ADL)} = \frac{G120 - G20 \times 0.9 \times 100}{P}$$

$$\text{Almidón resistente (AR)} = AT - (ADL + ADR)$$

Donde:

GT= Glucosa total, GL= Glucosa libre, P= Peso de la muestra, G20= Contenido de glucosa tras 20 minutos de digestión, G120= Contenido de glucosa tras 120 minutos de digestión, AT= Almidón Total, ADL= Almidón de Digestión Lenta, ADR= Almidón de Digestión Rápida

VI. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todas las determinaciones fueron reportadas por triplicado a excepción de los parámetros texturales de masa y pan, los cuales fueron realizados con cinco repeticiones para las masa y 10 repeticiones para el pan, los resultados fueron expresados como media \pm desviación estándar. Las variables de respuesta se analizaron mediante un análisis de varianza de una vía utilizando el software Statistica 12.0. Para la detección de diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las medias se utilizó una prueba post hoc de Tukey a un nivel fijo de $\alpha = 0.05$.

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Perfil de calidad del grano

7.1.1. Peso hectolítrico

El peso específico o peso hectolítrico es un parámetro ampliamente utilizado para evaluar la calidad física de los cereales, representa la estimación de su densidad a granel (expresada en $\text{kg}\cdot\text{hl}^{-1}$) y es el indicador más utilizado por la industria molinera (Lauro *et al.*, 2020).

El valor promedio de los granos de trigo fue de 83.69 ± 1.90 , de acuerdo con lo mencionado por Manley *et al.* (2009), granos de trigo sano tienen un peso hectolítrico entre 70 y 85 $\text{kg}\cdot\text{hl}^{-1}$, valor que puede ser afectado por la presencia de insectos o condiciones ambientales adversas. El peso hectolítrico puede brindar información acerca de la estructura biológica, así como la composición química del grano, influenciado incluso por la morfología de la semilla. Se considera aceptable el valor obtenido para un grano que ingresaría a germinación porque la estructura del grano se mantiene intacta, principalmente el embrión.

7.1.2. Peso de mil granos

El peso de mil granos está determinado por la homogeneidad y el tamaño de los granos, esta característica comprende: la longitud, ancho y grosor del grano. Se ha reportado previamente la importancia del peso de mil granos sobre la germinación, influyendo además sobre el vigor de la semilla y la emergencia de plántulas (Moshatati & Gharineh, 2012).

El peso de mil granos tuvo un valor promedio de 48.06 ± 0.12 g, consistente a lo reportado por Shahwani *et al.*, (2014), al analizar trigo harinero concluyó que granos más gruesos aseguran una germinación de hasta el 95.29% con respecto a variedades de trigo con grano pequeño con una germinación del 91.70%. De acuerdo con Olán *et al.* (2018), la dureza del trigo puede influir sobre el peso de mil granos, lo que está condicionado principalmente por la proteína y almidón contenido en el endospermo. Este parámetro puede tener impacto directo sobre propiedades como la calidad harinera y la cocción de productos de panadería.

Para la germinación resulta indispensable asegurar un contenido suficiente de proteína y almidón, así como tener una población de granos con un tamaño grande

y uniforme; ya que, los granos de mayor tamaño suelen competir menos por el agua, lo cual se relaciona con el porcentaje de germinación obtenido (98%).

7.2. Caracterización químico-proximal

En la Tabla 6 se presentan los resultados de la caracterización químico-proximal de las harinas de trigo, las observaciones sobre el contenido lipídico a los tratamientos sometidos a diferentes tiempos de germinación muestran un aumento estadísticamente significativo ($p < 0.05$), en los tratamientos GI-12 h (1.65%) y GI-48 h (2.26%) con respecto al tratamiento nativo NG (1.65%). Este incremento podría explicarse por la movilización de triacilglicéridos durante la germinación, proceso en el cual la enzima triacilglicerol lipasa facilita la liberación de ácidos grasos no esterificados y glicerol en el grano (Sinha *et al.*, 2020). Los ácidos grasos libres resultantes son posteriormente oxidados a través de las rutas metabólicas de la β -oxidación y el ciclo del glioxilato, generando azúcares que son utilizados posteriormente como fuente de energía en las siguientes etapas de la germinación (Gunathunga *et al.*, 2024; Sinha *et al.*, 2020). Baranzelli *et al.* (2018), reportaron un incremento en el contenido de lípidos en harinas de trigo germinado, atribuyendo este fenómeno a la liberación de lípidos durante la germinación.

Con respecto al contenido de proteico se observó un comportamiento poco uniforme al relacionarlo con el tiempo de germinación, se presentan diferencias estadísticamente significativas sobre todos los tratamientos; partiendo desde un contenido de 13.01% del tratamiento NG, experimentó una disminución significativa, obteniéndose un contenido del 10.80% y 11.92% para los tratamientos GI-12 h y GI-

Tabla 6. Composición químico-proximal obtenida de harinas de trigo germinado y sin germinar

Tipo de harina	Lípidos (%)	Cenizas (%)	Fibra (%)	Proteína (%)	Carbohidratos (%)
NG	1.65 ± 0.10 ^a	2.11 ± 0.05 ^a	7.06 ± 0.42 ^a	13.01 ± 0.01 ^a	72.17 ± 0.2 ^a
GI-12 h	1.80 ± 0.12 ^a	2.09 ± 0.06 ^a	7.19 ± 0.5 ^a	10.80 ± 0.05 ^c	76.11 ± 0.02 ^a
GI-48 h	2.26 ± 0.08 ^b	2.08 ± 0.09 ^a	7.07 ± 0.67 ^a	11.92 ± 0.02 ^b	72.67 ± 0.18 ^a

*Promedio de tres replicas ± desviación estándar. Diferentes letras en cada columna indican diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$)

**NG=No Germinado, GI-12 h= Germinación Inducida 12 horas, GI-48 h= Germinación inducida 48 hora

48, respectivamente. Este comportamiento podría explicarse por la descomposición de las proteínas insolubles en proteínas solubles durante la germinación, que son utilizadas como fuente principal de nitrógeno para el metabolismo (Lekjing & Venkatachalam, 2020). Además, los cambios en el contenido proteico pueden deberse a la activación enzimática y a la producción de ácidos nucleicos, que contribuyen al aumento de nitrógeno total. A su vez la degradación de las proteínas por proteasas y la síntesis de nuevas enzimas durante la germinación facilitan la liberación de aminoácidos libres (Moongngarm & Saetung, 2010). Yang *et al.* (2007) al estudiar la germinación de arroz reportaron que existe una disminución drástica de las proteínas asociadas a la maduración y desecación de semillas durante las primeras 24 horas de imbibición, asociando a que la degradación de estas proteínas podría ser anterior a la hidrólisis de las proteínas de almacenamiento y almidón, lo que podría asegurar funcionalidad de las harinas hechas de granos con cortos tiempos de germinación.

Alteraciones en el contenido de proteínas derivado de procesos de germinación ya han sido reportado previamente por Johnston *et al.* (2019) y Žilić *et al.* (2016) en trigo panadero bajo distintas condiciones. En un estudio proteómico realizado por Gupta *et al.*, (2021) sobre frijol mungo, se registró una disminución del 50% en el contenido de proteínas solubles durante la fase inicial de diez días de germinación. No obstante, se detectó un incremento del 4% en la concentración de proteínas entre 24 y 72 horas después de germinación, atribuido a la síntesis de proteínas y reducción de procesos respiratorios. Sin embargo, tal como mencionan (Moongngarm & Saetung, 2010), las variaciones en la composición química dependen de diversos factores, como las variedades de la especie vegetal, el suministro de agua, la aplicación de fertilizantes, la calidad de cosecha y la gestión del almacenamiento.

En cuanto a las cenizas no se observan cambios significativos sobre su composición, esto podría ser debido a que durante la germinación existe una débil degradación parcial de la aleurona, lo que no permite la liberación de elementos minerales, por lo que se preservan atrapados en las células del trigo (Lemmens

et al., 2019). esto resulta de importancia también al discutir sobre el contenido de fibra, ya que, aunque no presenta una disminución estadísticamente significativa, se presume que la composición de esta haya sido modificada por la presencia de almidón resistente que será discutido más adelante.

Con respecto al contenido de carbohidratos, no se observa un efecto estadísticamente significativo entre los tratamientos NG y GI-48 h, sin embargo, para el tratamiento GI-12 h, se observa un incremento en la composición de carbohidratos, lo que podría atribuirse a una biosíntesis, producto de la conversión de ácidos grasos mediante el ciclo del glioxilato ocurrido en el escutelo de la semilla (Ma *et al.*, 2016). Tal como explican Grassi *et al.* (2018), durante las primeras etapas de germinación comienza la acumulación de la actividad de las amilasas, sin embargo para las condiciones de germinación que ellos utilizaron, el contenido de almidón no disminuye hasta las 72 horas de germinación tomando como indicador la longitud de la radícula. Contrario a las observaciones realizadas por Marti *et al.* (2017) mencionan la disminución de almidón en trigo germinado por 12 y 24 horas, lo que desencadenó un incremento en la cantidad de azúcares libres, identificando principalmente maltosa, sacarosa y glucosa.

7.3. Caracterización tecno-funcional

La germinación es un proceso caracterizado por inducir un cambio en el catabolismo de los componentes de almacenamiento encargados de brindar nutrientes al embrión. Para el caso del almidón este se degrada mediante la actividad amilolítica (Mak *et al.*, 2009). Así las modificaciones de este tienden a afectar las propiedades de hidratación (Alcazar-Alay & Almeida Meireles, 2015).

Las propiedades funcionales de la harina tienen un impacto directo sobre la formulación de productos de panadería. Las interacciones que pueda tener con el agua afectan las propiedades de hidratación en gel de harina después de la germinación, los resultados de propiedades funcionales se resumen en la Tabla 6. Como se puede observar, para ambas variedades, la germinación aumentó sustancialmente la capacidad de absorción de agua (CAA) y el índice de solubilidad

en agua (ISA), se observó una disminución significativa del poder de hinchamiento cuyos resultados concuerdan con los obtenidos en harinas de arroz integral (Cornejo & Rosell, 2015) y harinas de sorgo (Singh *et al.*, 2017). Finalmente, no se observó una diferencia estadísticamente significativa de la capacidad de absorción de aceite.

7.3.1. Capacidad de absorción de agua (CAA)

La capacidad de absorción de agua (CAA) se define como la capacidad que tiene determinado producto alimenticio de absorber y retener agua (Dhillon *et al.*, 2020) Los valores obtenidos estuvieron en un rango de 1.78 a 2.12 g/g, observándose un aumento de la CAA estadísticamente significativo ($p < 0.05$), especialmente en los tratamientos que involucraban la harina con 48 horas de germinación, exhibiendo valores de 1.93 g/g hasta 2.12 g/g, el aumento de CAA se ha observado como una tendencia positiva en otros cereales como el sorgo (Azeke *et al.*, 2011), el arroz, la cebada (Abdullah *et al.*, 2022). El incremento de la capacidad de absorción de agua puede ser atribuido a la descomposición del almidón y el aumento en el contenido de azúcar, lo que impacta en la interacción de determinados sitios con la interacción de moléculas de agua. La descomposición del almidón también tiene efecto sobre la facilidad de hidratación de la harina (Elkhalifa & Bernhardt 2010).

7.3.2. Índice de solubilidad en Agua (ISA)

El valor del índice de solubilidad aumentó conforme avanzaba el tiempo de germinación. El índice de solubilidad en agua de harina de trigo integral sin germinar de 9.66% el cual tras la germinación incremento hasta 13.66%. Este comportamiento es similar al reportado por Dhillon *et al.* (2020). La configuración de mezclas no mostró una diferencia significativa a sus homologas puras.

Los valores más altos observados estuvieron relacionados al tiempo de 12 horas, esto es consistente a lo reportado por Jribi *et al.* (2019), donde el ISA disminuyo considerablemente a partir de 24 y 36 horas de germinación Los valores más altos observados estuvieron relacionados al tiempo de 12 horas. Este comportamiento es asociado al contenido de azucares reductores libres tal como lo reportó

Tabla 7. Propiedades Tecno-funcionales de mezclas de harina de trigo germinado y sin germinar

Tipo de harina	Proporción de la mezcla	CAAgua (g/g)	CAAceite (g/g)	Solubilidad (%)	Poder de hinchamiento
NG	100%	1.97 ± 0.04 ^{ab}	2.10 ± 0.15 ^a	14.61% ± 0.84 ^a	8.08 ± 0.03 ^a
GI-12 H	100%	2.12 ± 0.11 ^a	2.18 ± 0.05 ^a	13.66% ± 0.6 ^{ab}	7.75 ± 0.02 ^b
GI-48 H	100%	1.78 ± 0.02 ^b	2.02 ± 0.05 ^a	9.66% ± 0.88 ^c	7.6 ± 0.04 ^c
GI-12 h / GI 48 h	50%- 50%	1.99 ± 0.06 ^{ab}	2.30 ± 0.04 ^a	13.56% ± 0.62 ^{ab}	7.75 ± 0.03 ^b
GI-12 h / NG	50%- 50%	1.99 ± 0.09 ^{ab}	2.17 ± 0.06 ^a	11.20% ± 0.34 ^{cd}	7.66 ± 0.04 ^{b^c}
GI-48 h/ NG	50%- 50%	1.93 ± 0.08 ^{ab}	2.18 ± 0.06 ^a	11.09% ± 1.10 ^{cd}	7.63 ± 0.03 ^c
Central	33%-33%-33%	1.99 ± 0.105 ^{ab}	2.15 ± 0.12 ^a	12.27% ± 0.19 ^{bd}	7.52 ± 0.03 ^d

*Promedio de tres replicas ± desviación estándar. Diferentes letras en cada columna indican diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$)

**NG=No Germinado, GI-12 h= Germinación Inducida 12 horas, GI-48 h= Germinación inducida 48 horas, Central= GI-12 h / GI 48 h/ NG

Zhang *et al.* (2015). Dicho autor menciona que durante las primeras etapas de germinación no hay cambios estadísticamente remarcables, pero durante este período el contenido de azúcares reductores puede aumentar hasta 20 veces, lo que impacta el ISA.

7.3.3. Capacidad de absorción de aceite

Pese a no existir diferencia significativa entre el CAAC se observa una tendencia positiva a subir este parámetro conforme avanza el proceso de germinación. Este hallazgo es consistente con lo reportado previamente en harina integral de arroz germinado (Cornejo & Rosell, 2015) y sorgo germinado (Singh *et al.*, 2017). El aumento en la capacidad de absorción de aceite puede estar relacionado con la actividad proteolítica, relacionado con los cambios estructurales de las proteínas durante el proceso de germinación (Koehler *et al.*, 2007), debido a que ciertas regiones con afinidades lipofílicas se encuentran más expuestas a interactuar con lípidos (Singh *et al.*, 2015).

Tras mencionar lo anterior, se recomienda la utilización de harinas integrales germinadas para productos con alto contenido de grasa, ya que puede favorecer el mantenimiento de sabores intactos de los productos, así como propiedades paliativas en el consumo de productos de panificación (Kaushal *et al.*, 2012).

7.3.4. Poder de hinchamiento

El poder de hinchamiento de harina se considera como un parámetro útil para predecir el contenido de amilosa y las propiedades de empastado de los almidones de trigo (Blaze & Copeland, 2008). Como se observa en la Tabla 7 las harinas mostraron una relación negativa conforme avanzaba el tiempo de germinación, resultados similares fueron observados por Johnston *et al.*, (2019), donde el poder de hinchamiento de harinas de trigo germinado sufrió una disminución importante.

Esta disminución está asociada a la actividad amilolítica, conforme avanza el proceso germinativo las estructuras de almidón comienzan a degradarse, mientras que el contenido de moléculas hidrolizadas de bajo peso molecular y las cantidades

de oligosacáridos tiende a aumentar conforme el tiempo de germinación. Estos azúcares no tienen el poder de hinchamiento como los gránulos de almidón (Jibri *et al.*, 2017). Las mezclas mostraron un comportamiento similar a las harinas puras, sobre todo en las configuraciones NG/GI 12 h y GI 12 h/ GI 48 h.

7.4. Caracterización morfológica

Las características morfológicas de los gránulos de trigo observados en las micrografías (Figura 5) muestran dos poblaciones diferenciadas: por un lado gránulos grandes y alargados; así como, gránulos de tamaño más compacto y de forma esférica, lo cual concuerda con lo reportado por Colussi *et al.* (2021); estos autores identificaron una distribución bimodal de tamaño en gránulos de trigo, observando gránulos tipo A con forma de disco o lenticular y gránulos tipo B con forma esférica o irregular.

Los tratamientos con germinación inducida GI-48 h y GI-12 h mostraron indicios de erosión superficial (encerrado en las figuras). El estado de la superficie del gránulo es de especial importancia porque puede afectar la adsorción de la amilasa durante las fases iniciales del proceso de hidrólisis. Especialmente en el tratamiento GI-48 h se observa la formación de poros en los gránulos (Fig. 5c), este efecto se asocia a la endocorrosión producida por las α -amilasas. Lo cual puede variar dependiendo la fuente botánica de estudio, ya que almidones provenientes de granos suelen mostrar poros más amplios y profundos durante la germinación en comparación con almidones de tubérculo (Benavent-Gil & Rosell, 2017).

También se observaron cuerpos proteicos adheridos a la superficie de algunos gránulos, de acuerdo a Korompokis & Delcour (2023) estos cuerpos podrían ser proteínas involucradas en la síntesis del almidón como las puroindolinas así como residuos de proteínas de almacenamiento. La remoción de estas proteínas puede influir negativamente al aumentar el acceso de enzimas amilolíticas al gránulo (Ye *et al.*, 2019). Finalmente, todos los gránulos mostraron aparente daño estructural asociado a la molienda, de acuerdo a Wang *et al.* (2020) el almidón dañado por

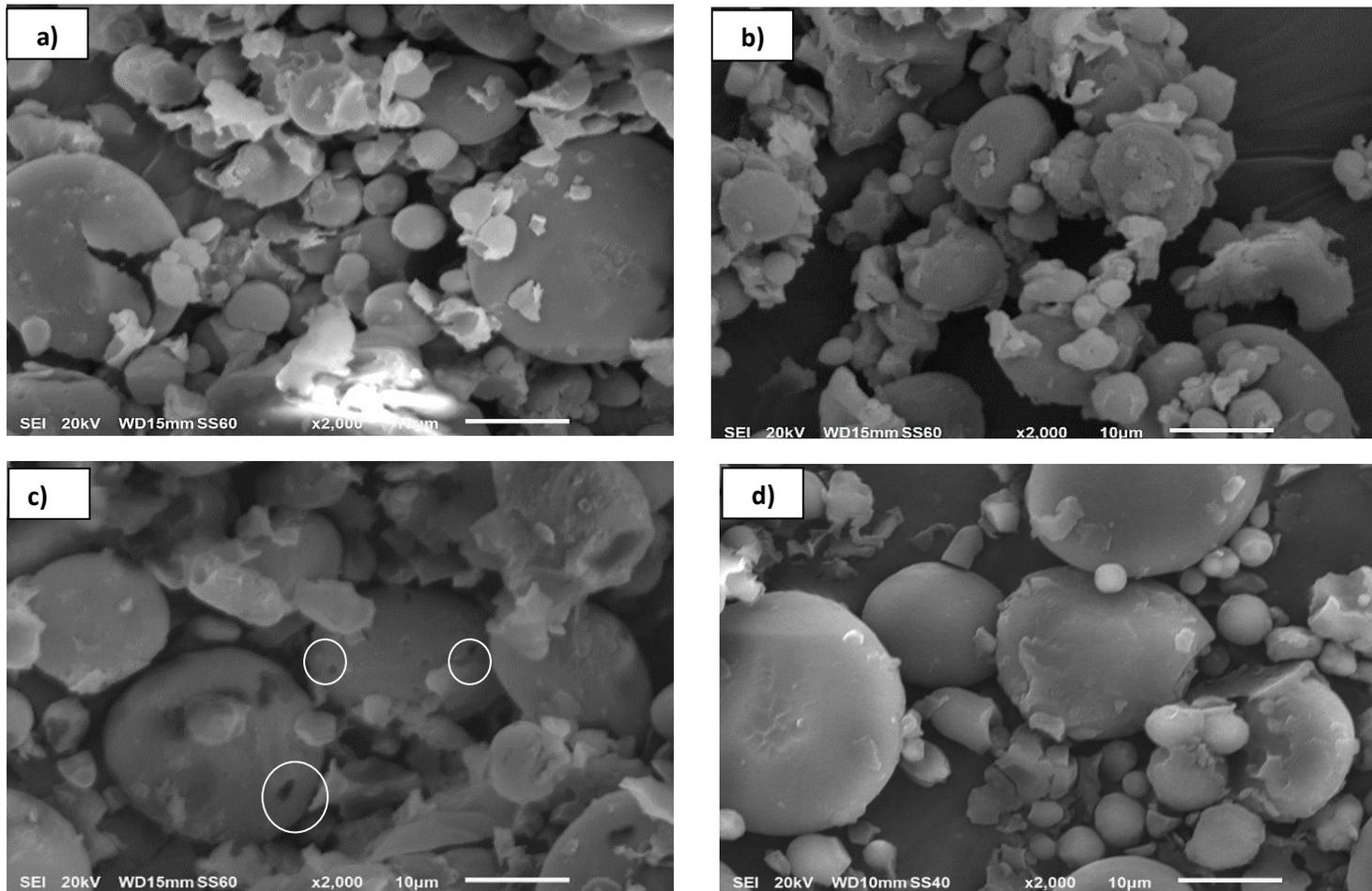


Figura 5. Micrografías electrónicas de barrido (X2000) de gránulos de almidón de trigo germinado y sin germinar: (a) Harina de granos de trigo no germinados (NG); (b) Harina de granos de trigo germinados a 12 horas (GI-12 h); (c) Harinas de granos de trigo germinados a 48 h (GI-48 h); (d) Harinas de mezclas de granos de trigo SG/GI-12 h/GI-48 h (Central)

molienda muestra una textura áspera y un aspecto deforme y distorsionado, tal como el observado en las micrografías.

7.5. Extensibilidad uniaxial

La reología de masas de las diferentes mezclas fue evaluada a través de la resistencia a la extensión (R_{\max}) y la extensibilidad máxima (Ext_{\max}). Los resultados obtenidos mediante la medición por el método de microextensómetro se reportan en la Tabla 8. Las propiedades reológicas uniaxiales de las masas mostraron variaciones notables en función del tiempo de germinación, sin observar una tendencia clara con respecto a las porciones de harina y el tiempo de germinación. Los valores de extensibilidad máxima y resistencia a la extensión mostraron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$), reflejando el impacto de la germinación sobre la estructura de la masa. Específicamente, los valores más altos de extensibilidad se observaron en el tratamiento con harina GI-12 h, alcanzando un promedio de 10.19 mm, mientras que los valores más bajos se registraron para la harina GI-48 h, con una extensibilidad de 4.15 mm. Esto indica una disminución notable en la extensibilidad máxima a medida que aumenta el tiempo de germinación con respecto al tratamiento NG (8.02 mm).

Por otro lado, la resistencia a la extensión presentó una tendencia inversa. El tratamiento GI-12 h mostró la resistencia más baja (0.11 N), lo que contrasta con la harina NG (0.28 N), donde se observó una disminución significativa en la capacidad de la masa para resistir la deformación. Sin embargo, al comparar el tratamiento GI-48 h (0.27 N) con NG, las diferencias fueron menos pronunciadas, sugiriendo que el tiempo de germinación influye de manera más significativa en la extensibilidad que en la resistencia a la extensión. Además, al considerar las mezclas de harinas, como NG/GI-12h y NG/GI-48h, se observó una mayor estabilidad en la red de gluten, manteniendo los valores de resistencia sin una reducción drástica, mostrando un efecto amortiguador sobre la reología al agregar la harina NG. Al analizar las combinaciones GI-12 h/GI-48 h y la muestra central, la masa mostró

Tabla 8. Resultados de extensibilidad uniaxial de mezclas de harinas de trigo germinado y sin germinar

Tipo de harina	Proporción (%)	Resistencia a la extensión (N)	Extensibilidad máxima (mm)
NG	100	0.28 ± 0.03 ^a	10.19 ± 1.21 ^a
GI-12 h	100	0.11 ± 0.02 ^e	4.15 ± 1.31 ^e
GI-48 H	100	0.27 ± 0.04 ^a	8.02 ± 1.51 ^{bd}
GI-12 h / GI 48 h	50- 50	0.17 ± 0.03 ^c	8.20 ± 1.04 ^b
GI-12 h / NG	50- 50	0.16 ± 0.01 ^b	9.75 ± 0.80 ^b
GI-48 h/ NG	50- 50	0.22 ± 0.02 ^c	7.96 ± 0.90 ^{cd}
Central	33-33-33	0.16 ± 0.01 ^c	7.62 ± 1.3 ^c

*Promedio de tres replicas ± desviación estándar. Diferentes letras en cada columna indican diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$)

**NG=No Germinado, GI-12 h= Germinación Inducida 12 horas, GI-48 h= Germinación inducida 48 horas, Central= GI-12 h / GI 48 h/ NG

una disminución notable en sus propiedades reológicas, lo que podría estar asociado a un debilitamiento en la estructura proteica como consecuencia de adicionar proteínas expuestas a actividad enzimática constante.

La germinación podría tener un efecto negativo sobre las propiedades viscoelásticas de la masa, lo que se reflejaría en la reducción tanto de la extensibilidad como de la resistencia a la extensión. Estos resultados sugieren que el proceso de germinación altera la composición proteica y la interacción entre las moléculas de gluten, afectando la capacidad de la masa para soportar la deformación durante el amasado y horneado. Las harinas con mayor tiempo de germinación (GI-48 h) parecen formar una red de gluten más débil, lo que podría estar relacionado con la disminución de la concentración de gluteninas, proteínas clave en la formación de una estructura elástica en la masa. Este proceso es reportado por Anderssen *et al.* (2004), quienes mencionan que las harinas con menor contenido de gluteninas y una proporción menos favorable entre gluteninas y gliadinas generan masas menos elásticas y más susceptibles a la ruptura bajo fuerzas mecánicas.

A nivel molecular, los procesos reológicos durante la mezcla de la masa juegan un papel crucial en durante la formación de la red de gluten. La energía mecánica aplicada durante el amasado induce deformaciones por cizallamiento y extensión uniaxial (Sliwinski *et al.*, 2004), que permiten la hidratación completa de las partículas de harina y la liberación de proteínas y almidón. Esto facilita la formación de una red de gluten cohesionada (Rathod & Kokini, 2013). La glutenina, una de las proteínas clave en este proceso, se estira y se alinea bajo la acción de las fuerzas mecánicas, formando enlaces no covalentes y disulfuro que estabilizan la masa y le confieren elasticidad. Este proceso es esencial para la capacidad de la masa de soportar la expansión de las burbujas de gas durante la fermentación y el horneado, mejorando así la maquinabilidad y la calidad del pan final ((Jødal & Larsen, 2021; Yazar, 2023).

Sin embargo, la germinación podría alterar las características estructurales del almidón y la proteína, lo que genera modificaciones en la reología. La actividad

enzimática, particularmente la proteolítica tiene un mayor efecto al generar una despolimerización proteica, termina afectando negativamente la red viscoelástica de la masa. Esta actividad proteolítica está asociada a una degradación de las largas cadenas de glutenina. Li *et al.* (2021) y Weegels *et al.*(1997) destacan que las propiedades de extensibilidad y resistencia de la masa están directamente relacionadas con la relación gliadina/glutenina. Las masas con una mayor proporción de gliadinas son más viscosas, pero menos elásticas, aunado a la formación de una red física entre los gránulos de almidón y la gliadina durante el amasado, lo que sugiere una reducción en la interacción intermolecular del gluten durante el proceso de amasado y fermentación.

Estudios similares como los realizados por Cauduro *et al.* (2023) muestran que la sustitución de harinas de trigo invernal germinadas por 48 y 72 horas disminuye la relación resistencia/extensibilidad (R/E) de la masa, lo cual es consistente con los resultados obtenidos en este estudio. Sin embargo, Cardone *et al.* (2021), reportaron que la germinación del sorgo rojo afectó significativamente la extensibilidad de la masa, mejorando sus propiedades al germinar el grano por 48 horas, lo que influyó positivamente en panes al generar un mayor volumen específico y menor firmeza del pan.

7.6. Cambios de la estructura cristalina en las harinas

En la Figura 6 se observan los difractogramas obtenidos por la prueba de difracción de rayos X (XRD). Es notable que la germinación genera cambios sobre la cristalinidad, observándose una disminución pronunciada conforme avanza el tiempo de germinación. El tratamiento NG mostró un porcentaje de cristalinidad del 43.35%, mientras que el tratamiento de germinación temprana GI-12 h apenas mostró una ligera diferencia (43.60%). Sin embargo, para el tratamiento GI-48 h, la cristalinidad disminuyó considerablemente hasta un 38.66%. Es interesante destacar que el tratamiento central, con una mezcla de harinas germinadas, mostró la cristalinidad más alta entre todas las muestras, lo que podría estar relacionado con interacciones entre cadenas de almidón de diferentes longitudes moleculares, afectando la distribución de agua y, en consecuencia, la cristalinidad medida. A

pesar de los cambios en los porcentajes de cristalinidad, el patrón de difracción polimórfico típico del almidón en cereales (tipo A) permanece intacto, presentando picos de inflexión a $2\theta = 14, 16, 17$ y 22° , como lo reportado por Kumar *et al.* (2023) al evaluar la cristalinidad de almidón de trigo.

La cristalinidad depende del ordenamiento estructural del almidón, siendo factores clave la relación amilosa-amilopectina, la longitud de cadena y el grado de ramificación (Kumar *et al.*, 2023). Los cambios observados durante la germinación inducida pueden deberse a una cambios en la relación amilosa/amilopectina, así como un incremento en ramificaciones de cadena corta. Se ha estudiado la relación entre la cristalinidad relativa con la interacción de dobles hélices (Wang *et al.*, 2012). Las ramificaciones y longitud del almidón tienen un papel fundamental en la formación de dobles hélices, las cuales son responsables de la estabilidad estructural en las zonas cristalinas. Los almidones con menor cantidad de cadenas cortas-medias de amilosa, pero una mayor proporción de cadenas medias de amilopectina, pueden promover una formación más eficiente de dobles hélices (Li *et al.*, 2021). Durante la germinación, la estructura de doble hélice de las regiones externas del gránulo se altera, lo que provoca cambios en los patrones de XRD, particularmente en el tratamiento GI-48 h, donde la pérdida de cristalinidad podría explicarse por un incremento en la actividad enzimática, debilitando la estructura y generando cadenas largas más susceptibles a la hidrólisis. Li *et al.*, (2017) señalaron que las cadenas de amilopectina estabilizan la estructura cristalina laminar del almidón; al hidrolizarse las cadenas largas, hay una interrupción dominios ordenados. Además,, You *et al.*, (2016), mencionan que el aumento en la proporción de cadenas cortas ($DP < 10$) disminuye la capacidad de formar enlaces de hidrógeno extensos e interactuar con otras cadenas vecinas. Este comportamiento ya ha sido reportado en otros cereales germinados como el sorgo, centeno, mijo, arroz y trigo bajo diversas condiciones de (Li *et al.*, 2017; Tian *et al.*, 2022; You *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2020). La degradación parcial de la amilopectina y el aumento en la proporción de cadenas cortas debido a la actividad enzimática durante la germinación generan cambios en los patrones de cristalinidad.

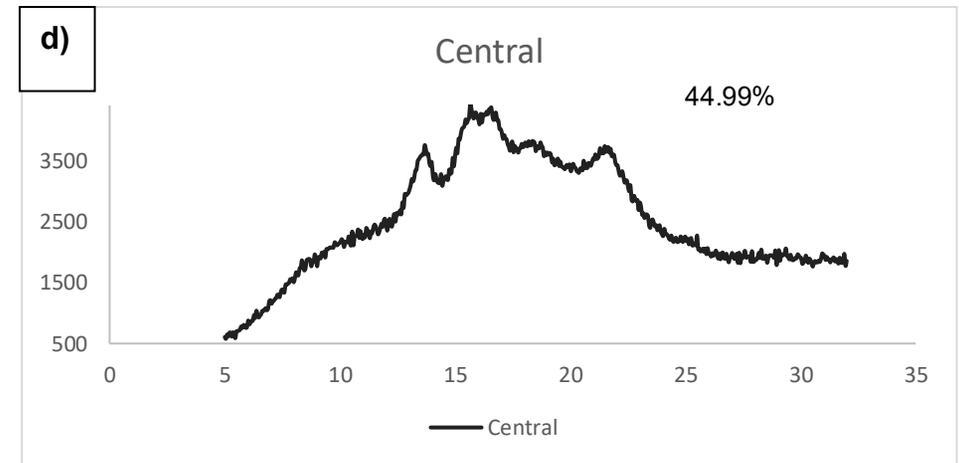
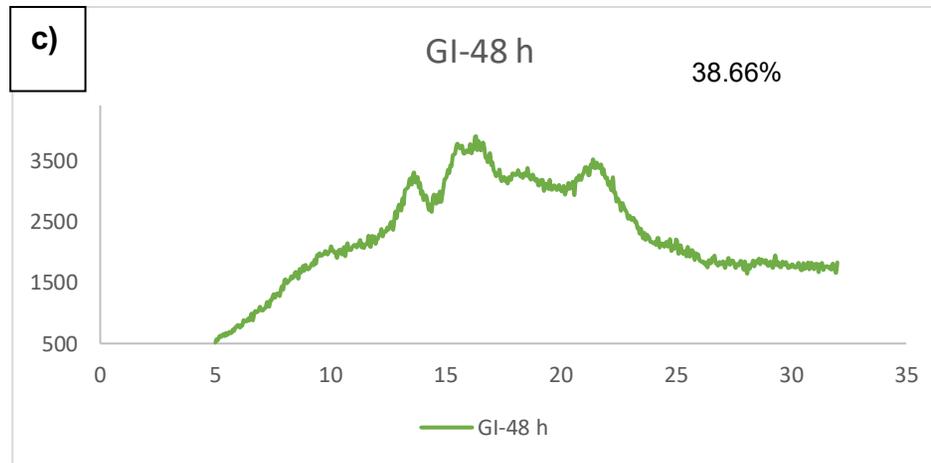
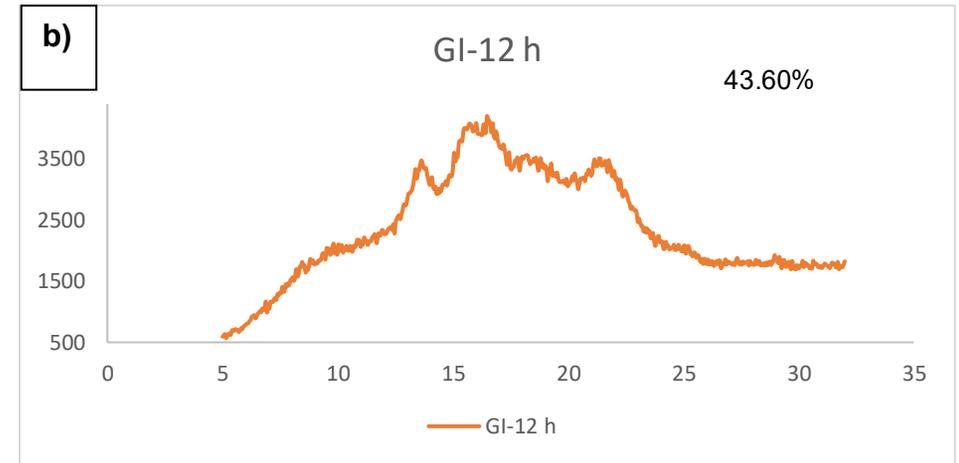
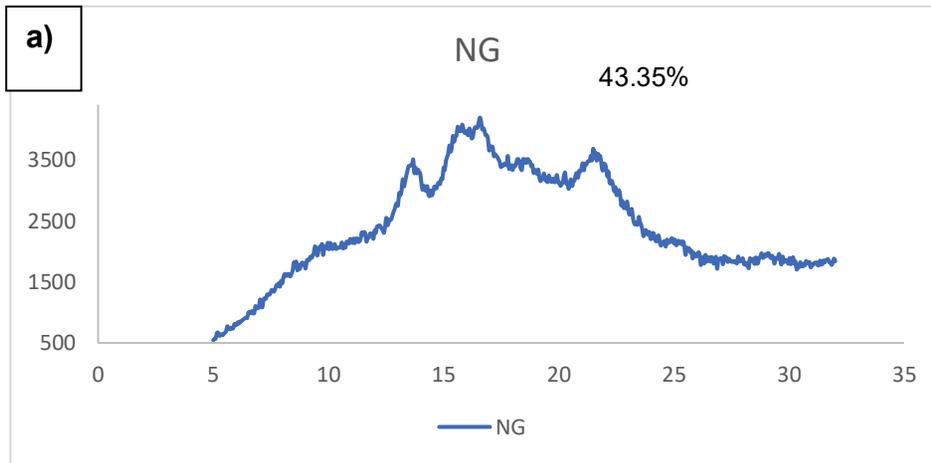


Figura 6. Patrón de difracción (2θ) de harinas de trigo a distintos tiempos de germinación y sin germinar

*Promedio de tres replicas \pm desviación estándar. Diferentes letras en cada columna indican diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$)

**NG=No Germinado, GI-12 h= Germinación Inducida 12 horas, GI-48 h= Germinación inducida 48 horas, Central= GI-12 h / GI 48 h/ NG

7.7 Propiedades físicas del pan

Al procesar la masa las proteínas de trigo sufren una serie de transformaciones complejas, de despolimerización y repolimerización, afectando la calidad del producto final. Estos tienen efectos sobre cómo se comporta la masa al ser sometida a deformaciones, la textura al tacto y su respuesta al calor durante la cocción (Jia *et al.*, 2022).

En la Figura 7 puede observarse la miga obtenida en los distintos panes, destacando características distintas en cuanto al tamaño y distribución de los alveolos, es posible distinguir que las harinas que incluían los tratamientos GI-12 h en su configuración produjeron una miga más compacta y con una distribución alveolar más uniforme a los tratamientos con GI-48 h.

En estos tratamientos se observó un tamaño de celdas más grandes puede ser indicador del volumen esperado del pan, relacionándolo con la producción de gas durante la fermentación y siendo apreciable cierto grado de coalescencia entre los canales formados en la estructura. Resultados similares han sido reportados por Al-Ansi *et al.* (2022) utilizando cebada germinada en la elaboración de pan, y denotando una porosidad celular menor como consecuencia de una alta actividad enzimática.

Naumenko *et al.* (2021) mencionan el papel determinante que puede tener la actividad amilolítica en la suavidad de la miga. Las enzimas amilolíticas degradan el almidón, disminuyendo la retrogradación de la amilopectina, lo que resulta en una miga más suave y elástica. Este proceso es vital para evitar la rigidez y el endurecimiento de la miga, contribuyendo a una mejor conservación y calidad sensorial del pan.

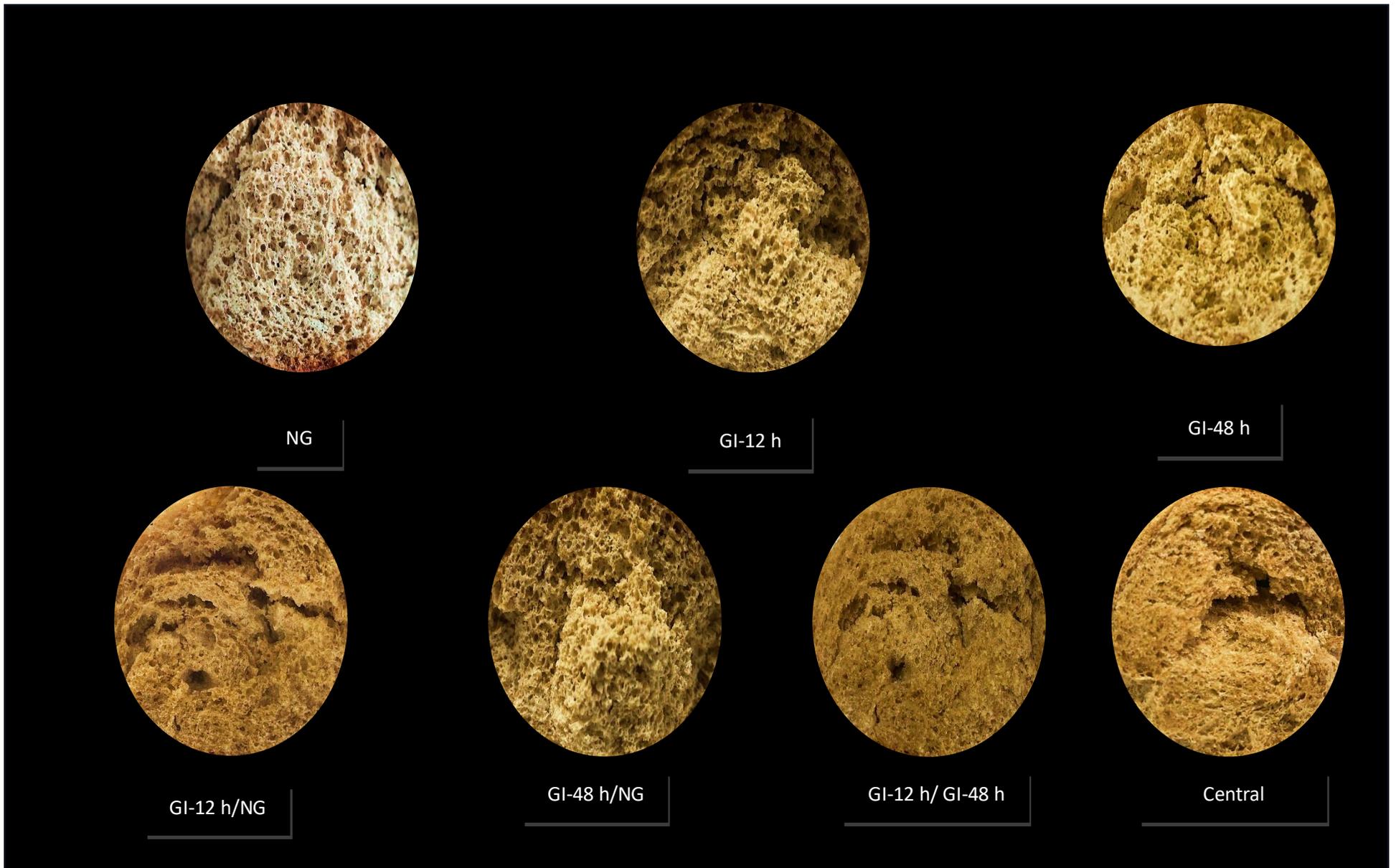


Figura 7. Estructura interna de la miga de panes obtenidos a partir de las mezclas

7.7.1 Volumen específico

El volumen específico es un parámetro crítico en la panificación que refleja la cantidad de dióxido de carbono que puede retenerse en la red de gluten, lo cual es determinante para la estructura y textura del pan (Monteiro *et al.*, 2021). En la Tabla 9, se reportan los resultados del volumen específico a los diferentes panes, donde se observa que existen diferencias estadísticamente significativas en el volumen específico entre los tratamientos que utilizaron harinas de granos germinados (GI) y el tratamiento no germinado (NG). El pan obtenido con harina NG presentó un volumen específico de 2.94 cm³/g, mientras que los tratamientos elaborados con harinas germinadas mostraron un incremento notable en su volumen, con 3.18 cm³/g para el tratamiento GI-12 h y 3.45 cm³/g para el tratamiento GI-48 h, indicando un efecto positivo en función del tiempo de germinación.

En cuanto a las configuraciones con mezclas, el tratamiento GI-48 h/NG mostró una mejora significativa en el volumen específico al compararse con el tratamiento NG puro, sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) al compararlo con el tratamiento puro GI-48 h, lo que sugiere que la incorporación de harina germinada de 48 horas potencia el rendimiento de las harinas nativas. Por otro lado, las mezclas de GI-12 h/NG y el tratamiento central no mostraron diferencias significativas con respecto al tratamiento NG, lo cual puede atribuirse a la liberación limitada de azúcares simples durante la germinación 12 horas. Los mecanismos propuestos por Marti *et al.* (2018) sugieren que el incremento de mono y disacáridos durante la germinación actúa como sustrato para la producción de dióxido de carbono, aumentando la retención de CO₂ en la masa, aunque tiempos prolongados de germinación pueden debilitar la red proteica y reducir la capacidad de expansión de la masa, debido a la interrupción de enlaces peptídicos, así como un incremento en la permeabilidad de la masa derivado del debilitamiento de las cadenas de almidón.

Tabla 9. Propiedades mecánicas y volumen específico de panes obtenidos de mezclas de granos germinados

Tipo de harina	Proporción	Dureza (N)	Elasticidad	Resiliencia	Masticabilidad (N)	Cohesividad	Volumen específico (cm ³ /g)
NG	100%	24.11 ± 2.35 ^a	0.93 ± 0.008 ^a	0.346 ± 0.0119 ^a	16.41 ± 1.837 ^a	0.734 ± 0.017 ^a	2.94 ± 0.07 ^b
GI-12 h	100%	10.80 ± 1.70 ^c	0.73 ± 0.032 ^{cd}	0.150 ± 0.016 ^d	3.17 ± 0.726 ^e	0.403 ± 0.038 ^e	3.18 ± 0.15 ^{ab}
GI-48 H	100%	16.07 ± 1.68 ^{bd}	0.69 ± 0.035 ^c	0.139 ± 0.018 ^d	3.94 ± 0.825 ^e	0.352 ± 0.027 ^c	3.45 ± 0.09 ^a
GI-12 h / GI 48 h	50%- 50%	16.37 ± 1.45 ^d	0.76 ± 0.017 ^{cd}	0.183 ± 0.016 ^c	5.45 ± 0.857 ^{cd}	0.436 ± 0.025 ^{de}	3.20 ± 0.11 ^{ab}
GI-12 h / NG	50%- 50%	17.82 ± 2.47 ^d	0.81 ± 0.021 ^b	0.213 ± 0.018 ^b	6.76 ± 0.825 ^c	0.469 ± 0.030 ^d	2.98 ± 0.27 ^b
GI-48 h/ NG	50%- 50%	21.95 ± 1.75 ^a	0.83 ± 0.021 ^b	0.230 ± 0.017 ^b	9.57 ± 1.216 ^b	0.527 ± 0.022 ^b	3.34 ± 0.15 ^a
Central	33%-33%-33%	13.50 ± 1.19 ^{bc}	0.72 ± 0.035 ^c	0.179 ± 0.014 ^c	4.14 ± 0.562 ^{ed}	0.42 ± 0.017 ^e	2.97 ± 0.10 ^b

*Promedio de tres replicas ± desviación estándar. Diferentes letras en cada columna indican diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$)

**NG=No Germinado, GI-12 h= Germinación Inducida 12 horas, GI-48 h= Germinación inducida 48 horas, Central= GI-12 h / GI 48 h/ NG

Por otro lado, en distintos estudios se ha destacado el rol que tiene el macropolímero de glutenina (GMP) en la resistencia a la extensión y en la capacidad de retención de gas durante la expansión dinámica de la masa (Ogilvie *et al.*, 2021; Schuster *et al.*, 2023), mecanismos oxidativos podrían tener diversos efectos sobre la red de gluten, enzimas oxidativas producidas durante la germinación como la peroxidasa y la lipoxigenasa tienden a favorecer el entrecruzamiento de la glutenina, y por lo tanto mejoran la expansión de la masa durante la fermentación (Žilić *et al.*, 2016), además derivado del estrés oxidativo generado existe un incremento en la producción de compuestos fenólicos, la presencia de estos compuestos tendrían la capacidad de secuestrar los grupos sulfhidrilos, lo que en consecuencia desestabilizaría las estructuras secundarias formadas en la red de gluten y explicaría la pérdida de funcionalidad en las harinas hechas de granos que han experimentado extensos tiempos de germinación (Baranzelli *et al.*, 2018).

El incremento en el volumen específico de panes elaborados a partir de trigo germinado ha sido explorado previamente por diversos autores bajo distintas condiciones de germinación (Baranzelli *et al.*, 2018; Cardone *et al.*, 2020; Johnston *et al.*, 2019; Naumenko *et al.*, 2021). Este comportamiento ha sido observado no solo en trigo, sino también en otros cereales como el sorgo (Cardone *et al.*, 2021) y la cebada (Perri *et al.*, 2023), lo que indica que la germinación puede mejorar la calidad del pan en términos de volumen y expansión, siempre que se controle adecuadamente la actividad enzimática y el tiempo de germinación.

7.7.2 Análisis de Perfil de textura (TPA)

La dureza, elasticidad, cohesividad, masticabilidad y resiliencia son características mecánicas importantes que describen a los alimentos horneados, así como el efecto del procesamiento y posterior consumo del pan, estas características están relacionadas con la percepción de frescura (Guiné, 2022; Tsai *et al.*, 2012). En la Tabla 9, se muestran los resultados obtenidos en las propiedades mecánicas de panes elaborados con harinas obtenidas de trigo germinado a distintos tiempos (12 h, 48 h) y con harinas no germinadas (NG), en distintas mezclas, midiendo su

comportamiento a la doble compresión mecánicas a través del análisis de perfil de textura (TPA).

Se observó que la germinación disminuyó de manera consistente la dureza en todos los tratamientos, excepto en el tratamiento GI-48 h/NG (21.95 N), donde no se registraron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) con respecto al tratamiento NG (24.11 N). Este comportamiento está alineado con lo reportado por Atudorei *et al.* (2022), quienes sugieren que la actividad enzimática derivada de la germinación favorece la coalescencia de burbujas en la masa, lo que afecta la distribución de los poros y genera estructuras menos densas y resistentes a la compresión mecánica. La disminución de la dureza en los panes elaborados con harinas germinadas se ha relacionado con el incremento de enzimas amilolíticas durante el proceso de germinación, que modifican la estructura del almidón, reduciendo la resistencia del pan (Rathnayake *et al.*, 2018; Sun *et al.*, 2023). Además, fue notorio un efecto sinérgico cuando se mezclaron harinas no germinadas (NG) con germinadas (GI), lo cual resultó en un incremento en los valores de dureza, en comparación con los panes hechos exclusivamente con harinas GI-12 h o GI-48 h. No obstante, este aumento no alcanzó los niveles de dureza del tratamiento NG. Este comportamiento sugiere que la combinación de harinas germinadas y no germinadas puede mitigar parcialmente la reducción de dureza, posiblemente debido a la hidrólisis parcial de las proteínas del gluten durante la germinación, que debilita la masa y permite la coalescencia de burbujas, afectando la distribución y uniformidad de los alveolos formados tras el horneado (Atudorei *et al.*, 2022; Rathnayake *et al.*, 2018; Sun *et al.*, 2023). Estas irregularidades en los alveolos fueron más evidentes en los panes elaborados con las mezclas GI-12 h, NG/GI-12 h y NG/GI-12 h/GI-48 h (ver Figura 7).

En contraste, estudios como el de Peñaranda *et al.* (2021) reportaron un comportamiento contrario a lo que se muestra en este estudio, al obtener un incremento en los valores de dureza al añadir harina de trigo germinada en un 50%. Por otro lado, hallazgos observados por Marti *et al.* (2018) describen el comportamiento obtenido tras la incorporación de harina de trigo germinado en el

pan, con una reducción sobre la firmeza en la migada pan, además de un menor contenido de humedad tras el almacenamiento, los panes con 50% o 100% de harina de trigo germinado mantuvieron una firmeza inferior al pan de control. Este efecto se atribuye a las enzimas hidrolíticas producidas durante la germinación, como la α -amilasa, que disminuye la retrogradación de la amilopectina y ralentiza el endurecimiento con diferentes texturas.

Esta discrepancia en los resultados puede explicarse por una variedad de factores, como diferencias en la composición química de los granos, la concentración de harinas usadas en la formulación del pan, los tiempos de germinación aplicados y las condiciones específicas bajo las cuales se llevó a cabo el análisis TPA.

La elasticidad, definida como la capacidad de un material para volver a su forma original tras ser deformado (Osella *et al.*, 2005) mostró una disminución sustancial en todas las configuraciones que incluían mezclas de harinas germinadas, siendo el tratamiento NG el que presentó los valores más altos. Este resultado puede atribuirse a la actividad de enzimas proteasas de cisteína, que hidrolizan el gluten durante la germinación, afectando la estructura de la red de gluten y, en consecuencia, la elasticidad de la masa. De acuerdo con los datos presentados en la Tabla 9, los valores de elasticidad variaron entre 0.93 y 0.69, donde el tratamiento con harina GI-48 h mostró el valor más bajo (0.69). Sin embargo, al analizar la mezcla 50-50 con la harina NG, hubo una mejora significativa en la elasticidad (0.83), superando al resto de las mezclas, en el siguiente orden: GI-48 h/NG > GI-12 h/NG > GI-12 h/GI-48 h > Central.

En cuanto a los panes elaborados con mezclas, se observó que los valores de elasticidad fueron superiores a los obtenidos en los panes hechos exclusivamente con GI-12 h y GI-48 h. Esto podría deberse a una sinergia entre las diferentes longitudes de cadena proteica, lo que refuerza la matriz estructural del pan. Este incremento en los valores de elasticidad es deseable en productos horneados, ya que una mayor elasticidad está asociada a una mejor frescura y una mayor aeración del pan, lo que impacta positivamente en su calidad final (Iglesias-Puig & Haros, 2013). Atudorei *et al.*, (2022) observaron que la adición de harina de garbanzo

germinado influye significativamente en las propiedades reológicas de la masa y la calidad del pan, mejorando el volumen y la elasticidad hasta un cierto nivel de incorporación. Sin embargo, un mayor porcentaje de harina germinada resultó en una disminución de estas propiedades.

La cohesividad, que evalúa la resistencia interna de los enlaces en la masa durante el proceso de masticación (Singh *et al.*, 2014), mostró valores más bajos en todos los tratamientos que contenían mezclas de harinas germinadas en comparación con la harina NG. Esto sugiere que la germinación afecta negativamente la cohesividad, probablemente debido a la degradación parcial de la red de gluten. En particular, los tratamientos que incluían GI-12 h presentaron los valores de cohesividad más bajos, lo que indica que los cambios en la estructura de la masa inducidos por la germinación resultan en una menor resistencia a la compresión interna. Además, se ha señalado que el tamaño, la distribución, el crecimiento y el colapso de las burbujas de gas liberadas durante la fermentación y el horneado tienen un impacto significativo en la textura del pan (Upadhyay *et al.*, 2012). Hallazgos similares han sido reportados por Sun *et al.* (2023), al evaluar la textura de pan al vapor de trigo germinado, donde la cohesividad incrementó con la adición de harina de trigo hasta un 2%, disminuyendo después de superar esa proporción. Este hallazgo indica que la harina de trigo germinado mejora la estructura interna del pan, haciéndolo menos propenso a desmoronarse y mejorando su capacidad de recuperación dentro de ciertos límites en la formulación

La resiliencia, que mide la capacidad de la masa para recuperar su forma inicial tras una deformación, mostró valores significativamente más bajos en todos los tratamientos comparados con NG. Esta disminución en la resiliencia sugiere una alteración en la estructura de la red de gluten, reduciendo la capacidad del pan para recuperar su forma original después de la compresión (Tóth *et al.*, 2022). En particular, el uso exclusivo de harinas germinadas redujo hasta casi un 50% la capacidad del pan de recobrar su forma original tras aplicar una fuerza de compresión. Este comportamiento se reflejó también en la disminución de los valores de masticabilidad y cohesividad en los panes elaborados únicamente con

harinas germinadas, como se observó en los tratamientos GI-48 h y GI-12 h; por lo tanto, la germinación podría alterar estos factores debido a una red de gluten debilitada, lo que se traduciría en una menor resiliencia del pan al colapsar las burbujas formadas durante la fermentación, afectando la estructura y calidad final del producto.

Por otro lado, los tratamientos con mezclas de harinas germinadas y no germinadas, específicamente GI-48 h/NG y GI-12 h/NG, mostraron incrementos en la resiliencia, cohesividad y masticabilidad respecto a los panes elaborados exclusivamente con harinas germinadas. Este comportamiento podría estar relacionado con lo descrito por Marco *et al.* (2008) quienes señalaron que las mezclas de proteínas hidrolizadas parcialmente en las masas podrían causar un efecto de sinergia en el entrecruzamiento de las proteínas. Esto se debe a las diferentes longitudes de cadena de las proteínas hidrolizadas, que favorecen la formación de enlaces intermoleculares, reforzando la matriz estructural del pan y provocando un incremento en las propiedades texturales.

Este efecto sinérgico no solo beneficia la cohesividad y masticabilidad del pan, sino que también impacta de manera positiva en la calidad general del producto, ya que una alta cohesividad y masticabilidad están asociadas con una buena formación del bolo alimenticio al masticar, evitando un pan quebradizo o migajoso (Onyango *et al.*, 2010). Finalmente, la masticabilidad, definida como la energía requerida para masticar el alimento hasta un estado apto para ser deglutido (Pasqualone *et al.*, 2017), presentó una disminución significativa en los tratamientos que incluían harinas germinadas. En particular, el tratamiento GI-48 h/NG fue el más cercano en valores a NG, aunque se observó una reducción importante en comparación con la harina no germinada. Esta disminución en la masticabilidad está relacionada con los menores valores de elasticidad y cohesividad observados, lo que reduce la fuerza necesaria para triturar el pan antes de tragarlo. Como mencionó (Shen *et al.*, 2021), la masticabilidad también está influenciada por la estructura del almidón, cuya modificación durante la germinación puede reducir la resistencia mecánica del pan. Gao *et al.* (2022) reportaron que el uso de harina de trigo germinado mejoró la

dureza, la gomosidad y la masticabilidad de los panes, resultados que coinciden con los obtenidos en nuestro estudio, donde las propiedades texturales del pan fueron notablemente afectadas por la germinación. La cohesividad disminuyó al utilizar harina germinada, sugiriendo que la formación del bolo alimenticio es más fácil, lo que mejora la experiencia sensorial.

7.7.3. Digestibilidad del proteína *in vitro*

Tal como se observa en la Tabla 10, las muestras de panes obtenidos con distintos tiempos de germinación muestran variaciones significativas en términos de digestibilidad de proteína *in vitro* (IVPD%). Se puede sugerir que las proteínas del trigo de mayor peso molecular se digirieron forma menos eficaz en el pan NG, ya observando que los panes que incluyeron trigo germinado se caracterizaron como altamente digeribles. El tratamiento NG (76.61%) mostró una digestibilidad inferior en comparación con los tratamientos germinados: GI-12 h (78.96%) y GI-48 h (80.32%). Cabe resaltar que no existe una relación aparente entre el contenido de proteína previamente reportado y la digestibilidad observada. Un comportamiento notable se observa en las mezclas, donde la susceptibilidad enzimática fue mayor en comparación con los tratamientos que utilizaron un solo tipo de harina. Todas las configuraciones de mezclas mostraron una digestibilidad potenciada frente a los panes obtenidos con harinas puras. Los tratamientos GI-12 h/GI-48 h y sus combinaciones fueron los más altos en todos los panes. Los panes obtenidos de las mezclas NG/GI-48 h, GI-12 h/GI-48 h y NG/GI-12 h/GI-48 h, mostraron valores de digestibilidad dentro de un intervalo de 81.95% a 83.58%, sin embargo, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ellas. Este comportamiento podría ser debido a que la mezcla de las harinas germinadas a 12 h y 48 h para la elaboración del pan podrían estar favoreciendo la heterogeneidad en la longitud de cadena de las proteínas hidrolizadas, lo que impacta en la digestibilidad.

Tabla 10. Resultados de digestibilidad de almidón y proteína en condiciones *in vitro* de pan hecho a partir de mezclas de granos germinados de trigo

Tipo de harina	Proporción	ADR (%)	ADL (%)	AR (%)	DPIV (%)
NG	100%	44.51 ± 5.72 ^a	3.32 ± 0.331 ^c	0.868 ± 0.276 ^c	76.611 ± 1.408 ^d
GI-12 h	100%	45.11 ± 2.10 ^a	11.13 ± 0.041 ^{ab}	2.144 ± 0.777 ^{ab}	78.964 ± 0.640 ^d
GI-48 H	100%	38.18 ± 2.81 ^b	13.15 ± 0.12 ^a	2.632 ± 0.088 ^a	80.321 ± 0.198 ^{bc}
GI-12 h / GI 48 h	50%- 50%	40.21 ± 3.06 ^{ab}	10.98 ± 1.175 ^{ab}	1.595 ± 0.61 ^{bc}	83.489 ± 0.896 ^a
GI-12 h / NG	50%- 50%	44.73 ± 2.64 ^a	6.03 ± 0.409 ^{ab}	1.267 ± 0.138 ^c	82.312 ± 1.024 ^{ac}
GI-48 h/ NG	50%- 50%	40.10 ± 3.22 ^{ab}	12.28 ± 1.02 ^a	1.307 ± 0.244 ^c	81.950 ± 0.512 ^{ab}
Central	33%-33%- 33%	40.89 ± 1.53 ^{ab}	8.10 ± 2.574 ^b	1.497 ± 0.200 ^{bc}	83.579 ± 0.768 ^a

*Promedio de tres replicas ± desviación estándar. Diferentes letras en cada columna indican diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$)

**NG=No Germinado, GI-12 h= Germinación Inducida 12 horas, GI-48 h= Germinación inducida 48 horas, Central= GI-12 h / GI 48 h/ NG

El mecanismo detrás de la mejora en la digestibilidad derivado en la longitud de los péptidos, así como el grado de hidrólisis de las proteínas queda en perspectiva para futuros estudios. La digestibilidad de las proteínas es considerada un proceso multifactorial. Por un lado, factores endógenos como el plegamiento y entrecruzamiento de las proteínas, debido a la formación de puentes disulfuro (S-S), y su perfil de aminoácidos, juegan un papel crucial. En el caso del gluten, posee una restricción a la hidrólisis por proteasas humanas debido a su alto contenido de prolina (13-17%), lo que genera péptidos de gran tamaño (10 a >30 residuos de aminoácidos) (Joye, 2019; Sollid, 2000; Wieser, 2007). Por otro lado, los factores exógenos, como las interacciones de las proteínas con componentes no proteicos como polifenoles, almidón, polisacáridos no amiláceos, fitatos y lípidos, también afectan la digestibilidad (Afify *et al.*, 2012). La digestibilidad puede utilizarse como un indicador de la biodisponibilidad de proteínas.

El incremento en la digestibilidad de las proteínas derivado de la germinación podría atribuirse a factores como el aumento en la solubilidad de las proteínas, la degradación de inhibidores enzimáticos de tripsina y el debilitamiento de las interacciones entre almidón y proteína (Elkhalifa & Bernhardt, 2010; Li *et al.*, 2017; Smith *et al.*, 2015). Los inhibidores de tripsina son comunes en cereales y su actividad inhibidora supone un reto nutricional, dado que interrumpen la capacidad del cuerpo de digerir proteínas. Sin embargo, se ha demostrado que la germinación reduce la actividad de estos inhibidores (Zhang *et al.*, 2015). Aunque se ha observado que la digestibilidad de proteínas suele disminuir durante el horneado, debido a la reacción de Maillard y la reticulación por efecto del calor (Cornejo *et al.*, 2015), este comportamiento no es observado en el caso de panes elaborados con trigo germinado, (Świeca *et al.*, 2017) reportaron que la harina de trigo germinado con altos niveles de fenoles disminuyó la digestibilidad de proteínas en panes probablemente debido a las interacciones de los fenoles con las enzimas digestivas y otras proteínas. Esto muestra que los compuestos fenólicos pueden inhibir la afinidad del sustrato por las enzimas digestivas, un fenómeno a tener en cuenta en futuros estudios.

Se ha reportado previamente el incremento en la digestibilidad de proteína *in vitro* en otras fuentes de cereales germinados. -En sorgo rojo, se observó una mejora en la digestibilidad independientemente de los tiempos de germinación (24 h, 36 h, 48 h, 72 h y 96 h) (Cardone *et al.*, 2021) Al evaluar el efecto de la germinación en arroz, (Cornejo *et al.*, 2015) encontraron que la digestibilidad *in vitro* aumentó significativamente en los panes obtenidos tras 12 h de germinación, pero una germinación más prolongada llevó a una reducción en la digestibilidad de las proteínas. Además, se ha observado que la digestibilidad de proteínas en garbanzo del 68% de la semilla hasta incrementar hasta 72%, 76% y 79% tras 3, 4 y 5 días de germinación (Uppal & Bains, 2012)

7.7.4 Digestibilidad del almidón *in vitro*

Se observaron diferencias significativas en la susceptibilidad del almidón a las enzimas digestivas en las muestras de pan, tal como se muestra en la Tabla 10. Las fracciones de Almidón de Digestión Rápida (ADR), Almidón de Digestión Lenta (ADL) y Almidón Resistente (AR) variaron considerablemente entre las diferentes configuraciones de trigo germinado. El ADR osciló entre el 40.89% y el 44.51%, mientras que las fracciones de ADL y AR tuvieron una concentración entre el 3.32-13.15% y 0.868-2.144%, para los tratamientos GI-12 h y GI-48 h respectivamente. Durante el proceso de germinación, se observó un incremento significativo en la proporción de ADL, partiendo de un contenido inicial de 3.32% en el tratamiento NG a incrementar hasta 11.13% en los tratamientos GI-12 h con otro posterior incremento de 13.35% para el tratamiento GI-48 h. Una mayor fracción ADL se acompañó de una reducción en las fracciones de ADR y AR, siendo los tratamientos GI-48 h y las mezclas de GI-48 h/NG, los que presentaron una menor digestibilidad del almidón *in vitro* en comparación con el resto de las configuraciones.

Es importante destacar que no se observó una tendencia clara en los valores de almidón de digestión rápida (ADR) en función de la germinación, ya que no se encontraron diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$) entre las distintas configuraciones. Esto sugiere que el tiempo de germinación y las mezclas de harinas germinadas no influyeron de manera consistente en el contenido de ADR.

Por otro lado, el contenido de AR en los panes que contenían harinas germinadas mostró que estos productos son una excelente fuente de almidón resistente, lo que puede tener un impacto positivo en la salud digestiva del consumidor. El contenido en los panes elaborados con harinas con germinación inducida (GI-12 h y GI-48 h, lo que demuestra que, pese a la gelatinización del almidón durante el horneado, existe cierta restricción enzimática.

Por otro lado, digestibilidad más alta del almidón in vitro se observó en el pan elaborado con la muestra NG, lo que refuerza la influencia de la germinación en la reducción de la digestibilidad del almidón.

De acuerdo con Qi *et al.* (2022), la digestibilidad del almidón está influenciada por factores endógenos, que incluyen (i) la relación amilosa/amilopectina, (ii) la distribución de la longitud de las cadenas y (iii) la distribución del tamaño molecular, lo que afecta directamente el comportamiento de digestión del almidón. Estos factores han sido ampliamente reportados en diversas fuentes de almidón (Gebre *et al.*, 2024; Li *et al.*, 2020; Obadi *et al.*, 2020). En el contexto de la germinación del trigo, estos elementos juegan un papel crucial, ya que las modificaciones estructurales del almidón resultantes de la germinación generan cadenas más cortas y alteraciones en la distribución de las cadenas de glucanos, afectando tanto la proporción de ADL como de AR.

Los mecanismos que explican los cambios en la digestibilidad del almidón se pueden asociar a la degradación enzimática y a las interacciones entre proteínas y almidón a través de fuerzas hidrofóbicas, de enlace de hidrógeno y electrostáticas (Zhou *et al.*, 2021). La modificación de estas interacciones altera la estructura molecular del almidón, lo que influye en la distribución de la longitud de las cadenas y, por ende, en la tasa de digestión. En particular, las proteínas pueden estabilizar las cadenas de amilosa y amilopectina, lo que dificulta el acceso de las enzimas digestivas y disminuye la velocidad de hidrólisis. Además, la proporción entre amilosa y amilopectina también juega un papel clave, ya que la mayor longitud de las cadenas de amilosa está asociada con una mayor cantidad de enlaces de hidrógeno intramoleculares, lo que reduce la superficie accesible para la α -amilasa

y ralentiza la digestión (Li *et al.*, 2019). Este fenómeno es crucial para entender por qué una mayor proporción de amilosa en comparación con la amilopectina puede disminuir el índice de hidrólisis del almidón, mientras que la mayor cantidad de puntos de ramificación en la amilopectina incrementa la superficie disponible para las enzimas hidrolíticas, lo que facilita su digestión.

Durante la germinación, las cadenas cortas de almidón, con un grado de polimerización (GP) de 6 a 12, están relacionadas con la formación de almidón de digestión lenta (SDS), mientras que las estructuras semicristalinas de mayor GP (≥ 37) están asociadas a fracciones de almidón resistente (RS), lo que dificulta el acceso de las enzimas amilolíticas y ralentiza la digestión del almidón (Kim *et al.*, 2020). Este fenómeno puede explicarse también por la modificación estructural de la amilopectina, Ao *et al.* (2007), observaron que el acortamiento parcial de las cadenas exteriores de amilopectina mediante tratamientos enzimáticos redujo la velocidad de digestión del almidón. Este efecto está relacionado con la disminución de la cristalinidad del almidón, lo que se observó en los resultados de difracción de rayos X (XRD), y que contribuye a una digestión más lenta en los panes elaborados con harinas de trigo germinadas.

Además, la presencia de compuestos fenólicos en los granos germinados también puede influir en la digestibilidad del almidón. Tal como menciona Giuberti *et al.*, (2020) estos compuestos tienen la capacidad de inhibir la actividad de la α -amilasa, interfiriendo en el sitio activo de la enzima a través de interacciones hidrofóbicas, electrostáticas y de enlace de hidrógeno. Un ejemplo de este efecto antagónico sobre el trigo es el de Świeca *et al.*, (2017) que reportaron que la germinación de granos de trigo durante 48 horas resultó en una liberación de compuestos fenólicos que inhibieron la digestión del almidón aumentando el contenido de ADL y AR.

Previamente se creía que la germinación propiciaba un aumento en la bioaccesibilidad del almidón derivada de un incremento en la actividad de la amilasa Dhital *et al.*, (2017). Sin embargo, estudios previos han mostrado resultados favorables en reducir la digestibilidad del almidón sobre productos horneados. Cornejo *et al.* (2015) informaron una reducción del 58% en la digestibilidad *in vitro*

del almidón en panes elaborados con arroz germinado, mientras que Marti *et al.* (2018) observaron un incremento significativo en el contenido de almidón de digestión lenta (ADL) en panes elaborados con harina de trigo germinado durante 48 horas, lo que es consistente con los resultados obtenidos en este estudio.

VIII. CONCLUSIÓN

Este trabajo evaluó de manera exhaustiva las propiedades fisicoquímicas, mecánicas y de digestibilidad de panes elaborados con mezclas de harinas de trigo con diferentes tiempos de germinación, cumpliendo satisfactoriamente con los objetivos planteados.

Primero, se determinó la calidad de los granos de trigo, asegurando que posean las características técnicas necesarias para la panificación. El análisis de la germinación mostró un impacto positivo en la calidad de las harinas, particularmente en términos de capacidad de absorción de agua y solubilidad, lo que favorece su desempeño en productos de panificación.

En segundo lugar, el estudio del efecto de la germinación sobre la integridad estructural del almidón a través de microscopía electrónica de barrido y difracción de rayos X reveló cambios significativos. Los gránulos de almidón experimentaron erosiones superficiales, formación de poros y un incremento de la actividad amilolítica, lo cual desencadenó una degradación estructural progresiva. Este proceso, observado principalmente en los tratamientos de 48 horas de germinación, resalta la capacidad de las enzimas amilolíticas para modificar la matriz del almidón. La microscopía electrónica evidenció estos cambios estructurales a nivel superficial, mientras que la difracción de rayos X confirmó una disminución en la cristalinidad relativa del almidón, lo que es consistente con un mayor acceso de las enzimas a las estructuras degradadas. Este impacto en la integridad del almidón es fundamental, ya que favorece la hidrólisis y el potencial funcional de las harinas en aplicaciones de panificación.

Tercero, el análisis de la composición química proximal evidenció que la germinación, aunque modificó la estructura del almidón y las proteínas, no comprometió significativamente el valor nutricional de las harinas. Esto es particularmente importante, ya que asegura que la germinación puede emplearse como una herramienta para mejorar las propiedades funcionales sin afectar negativamente el contenido nutricional, lo que refuerza el potencial de las harinas germinadas como ingredientes funcionales.

En cuanto a las propiedades tecno-funcionales, la germinación incrementó la capacidad de absorción de agua (CAA) y el índice de solubilidad en agua (ISA), mejorando la interacción de las harinas con el agua. Esto se debe en parte a la degradación del almidón y al aumento del contenido de azúcares reducidos, lo cual promueve una mayor hidratación. Sin embargo, se observó una disminución en el poder de hinchamiento, lo que está relacionado con la descomposición del almidón en cadenas más cortas y azúcares de bajo peso molecular, que no poseen la misma capacidad de hinchamiento que los gránulos de almidón intactos.

Las pruebas texturales realizadas mostraron que la germinación impacta de manera directa en la extensibilidad uniaxial de las masas. Se observó una mayor extensibilidad y una menor resistencia, lo que es indicativo de un debilitamiento de la red de gluten debido a la actividad proteolítica. Este hallazgo es congruente con la literatura, donde se reporta que las proteínas de gluten pierden su cohesión bajo la influencia de las proteasas activadas durante la germinación. Este cambio en las propiedades mecánicas es importante para la formulación de panes, ya que influye en la textura final del producto.

En términos de digestibilidad, los resultados mostraron un aumento en la digestibilidad de almidón y proteínas en los panes elaborados a partir de harinas germinadas. Esto puede atribuirse, en parte, a la actividad enzimática que degrada las macromoléculas en formas más accesibles para los procesos digestivos. La descomposición parcial de las proteínas de almacenamiento y el almidón durante la germinación crea estructuras menos resistentes a la digestión, lo que se traduce en una mayor disponibilidad de nutrientes. Este aumento en la digestibilidad tiene

implicaciones importantes para la salud del consumidor, ya que facilita la absorción de nutrientes esenciales.

Finalmente, la germinación controlada mostró ser una estrategia viable para mejorar las propiedades funcionales y nutricionales de las harinas, con potencial de aplicación en productos de panificación. Los panes elaborados con harinas germinadas no solo poseen propiedades mejoradas en términos de digestibilidad y textura, sino que también ofrecen un perfil nutricional atractivo para consumidores que buscan productos con beneficios adicionales para la salud. La capacidad de las harinas germinadas para mejorar la digestibilidad y aumentar la absorción de nutrientes refuerza su consideración como ingredientes funcionales en la industria alimentaria.

En conclusión, la germinación de los granos de trigo no solo mejora las propiedades tecno-funcionales y nutricionales de las harinas, sino que también potencia la digestibilidad del producto final, haciendo que los panes elaborados con estas harinas sean una opción viable y saludable para el consumo diario.

IX. REFERENCIAS

- AACC, A. M. of A. (2009). *Approved Methods of American Association of Cereal Chemists*. (11a ed.). AACC International.
<https://doi.org/10.1094/AACCIIntMethod-44-01.01>
- Abdullah, M., Tufail, T., Hussain, M., Nadeem, M., Owais, M., Zulkiffal, M., Hammad Tanveer, M., & Al Jbawi, E. (2022). Effect of sprouted barley flour on the quality wheat of bread, biscuits and cakes. *Cogent Food & Agriculture*, 8(1), 2122272. <https://doi.org/10.1080/23311932.2022.2122272>
- Abido, W. A. E., & Zsombik, L. (2018). Effect of water stress on germination of some Hungarian wheat landraces varieties. *Acta Ecologica Sinica*, 38(6), 422–428. <https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2018.03.004>
- Afify, A. E.-M. M. R., El-Beltagi, H. S., Abd El-Salam, S. M., & Omran, A. A. (2012). Protein Solubility, Digestibility and Fractionation after Germination of Sorghum Varieties. *PLoS ONE*, 7(2), e31154.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031154>
- Ahammed, G. J., Gantait, S., Mitra, M., Yang, Y., & Li, X. (2020). Role of ethylene crosstalk in seed germination and early seedling development: A review. *Plant Physiology and Biochemistry*, 151, 124–131.
<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.03.016>
- Al-Ansi, W., Zhang, Y., Alkawry, T. A. A., Al-Adeeb, A., Mahdi, A. A., Al-Maqtari, Q. A., Ahmed, A., Mushtaq, B. S., Fan, M., Li, Y., Qian, H., Yang, L., Pan, Q., & Wang, L. (2022). Influence of germination on bread-making behaviors,

- functional and shelf-life properties, and overall quality of highland barley bread. *LWT*, 159, 113200. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113200>
- Ali, A. S., & Elozeiri, A. A. (2017). Metabolic Processes During Seed Germination. En J. C. Jimenez-Lopez (Ed.), *Advances in Seed Biology*. InTech. <https://doi.org/10.5772/intechopen.70653>
- Ali, Q., Perveen, R., El-Esawi, M. A., Ali, S., Hussain, S. M., Amber, M., Iqbal, N., Rizwan, M., Alyemeni, M. N., El-Serehy, H. A., Al-Misned, F. A., & Ahmad, P. (2020). Low Doses of *Cuscuta reflexa* Extract Act as Natural Biostimulants to Improve the Germination Vigor, Growth, and Grain Yield of Wheat Grown under Water Stress: Photosynthetic Pigments, Antioxidative Defense Mechanisms, and Nutrient Acquisition. *Biomolecules*, 10(9), 1212. <https://doi.org/10.3390/biom10091212>
- Allen, P. S., Benech-Arnold, R. L., Batlla, D., & Bradford, K. J. (2007). Modeling of Seed Dormancy. En K. J. Bradford & H. Nonogaki (Eds.), *Seed Development, Dormancy and Germination* (pp. 72–112). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1002/9780470988848.ch4>
- Alomari, D. Z., Schierenbeck, M., Alqudah, A. M., Alqahtani, M. D., Wagner, S., Rolletschek, H., Borisjuk, L., & Röder, M. S. (2023). Wheat Grains as a Sustainable Source of Protein for Health. *Nutrients*, 15(20), 4398. <https://doi.org/10.3390/nu15204398>
- Alvarado, V., & Bradford, K. J. (2002). A hydrothermal time model explains the cardinal temperatures for seed germination: Hydrothermal time model of seed germination. *Plant, Cell & Environment*, 25(8), 1061–1069. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2002.00894.x>

- Anderssen, R. S., Bekes, F., Gras, P. W., Nikolov, A., & Wood, J. T. (2004). Wheat-flour dough extensibility as a discriminator for wheat varieties. *Journal of Cereal Science*, 39(2), 195–203. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2003.10.002>
- Anjum, F. M., Tufail, S., Hussain, S., Khan, M. I., Arshad, M. S., & Nadeem, M. (2012). Effect of Bioprocesses on Phenolic Compounds, Phytic Acid and HCl Extractability of Minerals in Wheat Cultivars. *Food Science and Technology Research*, 18(4), 555–562. <https://doi.org/10.3136/fstr.18.555>
- Ao, Z., Simsek, S., Zhang, G., Venkatachalam, M., Reuhs, B. L., & Hamaker, B. R. (2007). Starch with a Slow Digestion Property Produced by Altering Its Chain Length, Branch Density, and Crystalline Structure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(11), 4540–4547. <https://doi.org/10.1021/jf063123x>
- Aoki, N., Scofield, G. N., Wang, X.-D., Offler, C. E., Patrick, J. W., & Furbank, R. T. (2006). Pathway of Sugar Transport in Germinating Wheat Seeds. *Plant Physiology*, 141(4), 1255–1263. <https://doi.org/10.1104/pp.106.082719>
- Arranz-Otaegui, A., Colledge, S., Zapata, L., Teira-Mayolini, L. C., & Ibáñez, J. J. (2016). Regional diversity on the timing for the initial appearance of cereal cultivation and domestication in southwest Asia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(49), 14001–14006. <https://doi.org/10.1073/pnas.1612797113>
- Arteca, R. N., & Arteca, J. M. (2008). Effects of brassinosteroid, auxin, and cytokinin on ethylene production in *Arabidopsis thaliana* plants. *Journal of Experimental Botany*, 59(11), 3019–3026. <https://doi.org/10.1093/jxb/ern159>

- Atudorei, D., Atudorei, O., & Codină, G. G. (2022). The Impact of Germinated Chickpea Flour Addition on Dough Rheology and Bread Quality. *Plants*, 11(9), 1225. <https://doi.org/10.3390/plants11091225>
- Azeke, M. A., Egielewa, S. J., Eigbogbo, M. U., & Ihimire, I. G. (2011). Effect of germination on the phytase activity, phytate and total phosphorus contents of rice (*Oryza sativa*), maize (*Zea mays*), millet (*Panicum miliaceum*), sorghum (*Sorghum bicolor*) and wheat (*Triticum aestivum*). *Journal of Food Science and Technology*, 48(6), 724–729. <https://doi.org/10.1007/s13197-010-0186-y>
- Baranzelli, J., Kringel, D. H., Colussi, R., Paiva, F. F., Aranha, B. C., Miranda, M. Z. de, Zavareze, E. da R., & Dias, A. R. G. (2018). Changes in enzymatic activity, technological quality and gamma-aminobutyric acid (GABA) content of wheat flour as affected by germination. *LWT*, 90, 483–490. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.070>
- Barron, C., Surget, A., & Rouau, X. (2007). Relative amounts of tissues in mature wheat (*Triticum aestivum* L.) grain and their carbohydrate and phenolic acid composition. *Journal of Cereal Science*, 45(1), 88–96. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2006.07.004>
- Baskin, J. M., & Baskin, C. C. (2003). Classification, Biogeography, and Phylogenetic Relationships of Seed Dormancy. En *Seed Conservation Turning Science into Practice*. Royal Botanic Gardens.
- Baskin, J. M., & Baskin, C. C. (2004). A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research*, 14(1), 1–16. <https://doi.org/10.1079/SSR2003150>

- Benavent-Gil, Y., & Rosell, C. M. (2017). Comparison of porous starches obtained from different enzyme types and levels. *Carbohydrate Polymers*, *157*, 533–540. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.10.047>
- Benincasa, P., Falcinelli, B., Lutts, S., Stagnari, F., & Galieni, A. (2019). Sprouted Grains: A Comprehensive Review. *Nutrients*, *11*(2), 421. <https://doi.org/10.3390/nu11020421>
- Benincasa, P., Galieni, A., Manetta, A. C., Pace, R., Guiducci, M., Pisante, M., & Stagnari, F. (2015). Phenolic compounds in grains, sprouts and wheatgrass of hulled and non-hulled wheat species. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *95*(9), 1795–1803. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6877>
- Bentsink, L., & Koornneef, M. (2008). Seed dormancy and germination. *The Arabidopsis Book*, *6*, e0119. <https://doi.org/10.1199/tab.0119>
- Bewley, J. D. (1997). Seed Germination and Dormancy. *The Plant Cell*, 1055–1066. <https://doi.org/10.1105/tpc.9.7.1055>
- Bewley, J. D., & Black, M. (1994). *Seeds: Physiology of Development and Germination*. Springer US. <https://doi.org/10.1007/978-1-4899-1002-8>
- Bogaard, A. (2016). Archaeobotany: The wheat and the chaff. *Nature Plants*, *2*(6), 16079. <https://doi.org/10.1038/nplants.2016.79>
- Boukid, F., Prandi, B., Buhler, S., & Sforza, S. (2017). Effectiveness of Germination on Protein Hydrolysis as a Way To Reduce Adverse Reactions to Wheat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *65*(45), 9854–9860. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b03175>
- Bykova, N. V., Hoehn, B., Rampitsch, C., Banks, T., Stebbing, J.-A., Fan, T., & Knox, R. (2011). Redox-sensitive proteome and antioxidant strategies in

wheat seed dormancy control. *PROTEOMICS*, 11(5), 865–882.

<https://doi.org/10.1002/pmic.200900810>

Cardone, G., Grassi, S., Scipioni, A., & Marti, A. (2020). Bread-making performance of durum wheat as affected by sprouting. *LWT*, 134, 110021.

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110021>

Cardone, G., Rumler, R., Speranza, S., Marti, A., & Schönlechner, R. (2021).

Sprouting Time Affects Sorghum (*Sorghum bicolor* [L.] Moench)

Functionality and Bread-Baking Performance. *Foods*, 10(10), 2285.

<https://doi.org/10.3390/foods10102285>

Cauduro, T., D’Almeida, C. T. S., Biduski, B., Santos, A. D., Santos, M. C. B., Lima,

L. R. D. S., Cameron, L. C., Bertolin, T. E., Ferreira, M. S. L., & Gutkoski, L.

C. (2023). Whole wheat flour replaced by sprouted wheat improves phenolic compounds profile, rheological and bread-making properties. *Journal of Cereal Science*, 114, 103778.

<https://doi.org/10.1016/j.jcs.2023.103778>

Colonna, P., Leloup, V., & Buléon, A. (1992). Limiting factors of starch hydrolysis.

European Journal of Clinical Nutrition, 46 Suppl 2, S17-32.

Colussi, R., Dias Antunes, M., Gutkoski, L. C., Vanier, N. L., Zavareze, E. D. R., &

Dias, A. R. G. (2021). A- and B-type starch granules from wheat exhibiting weak, medium, and strong gluten: An investigation of physicochemical, morphological, and in vitro digestion properties. *Cereal Chemistry*, 98(3),

547–556. <https://doi.org/10.1002/cche.10395>

547–556. <https://doi.org/10.1002/cche.10395>

Cornejo, F., Caceres, P. J., Martínez-Villaluenga, C., Rosell, C. M., & Frias, J.

(2015). Effects of germination on the nutritive value and bioactive

compounds of brown rice breads. *Food Chemistry*, 173, 298–304.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.037>

Dadrasi, A., Chaichi, M., Nehbandani, A., Sheikhi, A., Salmani, F., & Nemati, A.

(2023). Addressing food insecurity: An exploration of wheat production expansion. *PLOS ONE*, 18(12), e0290684.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0290684>

Dapčević-Hadnađev, T., Tomić, J., Škrobot, D., Šarić, B., & Hadnađev, M. (2022).

Processing strategies to improve the breadmaking potential of whole-grain wheat and non-wheat flours. *Discover Food*, 2(1), 11.

<https://doi.org/10.1007/s44187-022-00012-w>

Dhillon, B., Choudhary, G., & Sodhi, N. S. (2020). A study on physicochemical,

antioxidant and microbial properties of germinated wheat flour and its utilization in breads. *Journal of Food Science and Technology*, 57(8), 2800–

2808. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04311-x>

Dhital, S., Warren, F. J., Butterworth, P. J., Ellis, P. R., & Gidley, M. J. (2017).

Mechanisms of starch digestion by α -amylase—Structural basis for kinetic properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(5), 875–892.

<https://doi.org/10.1080/10408398.2014.922043>

Diaz-Mendoza, M., Diaz, I., & Martinez, M. (2019). Insights on the Proteases

Involved in Barley and Wheat Grain Germination. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(9), 2087. <https://doi.org/10.3390/ijms20092087>

Dong, K., Zhen, S., Cheng, Z., Cao, H., Ge, P., & Yan, Y. (2015). Proteomic

Analysis Reveals Key Proteins and Phosphoproteins upon Seed

- Germination of Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Frontiers in Plant Science*, 6.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01017>
- Donkor, O. N., Stojanovska, L., Ginn, P., Ashton, J., & Vasiljevic, T. (2012).
Germinated grains – Sources of bioactive compounds. *Food Chemistry*,
135(3), 950–959. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.058>
- Egli, I., Davidsson, L., Juillerat, M. A., Barclay, D., & Hurrell, R. F. (2002). The
Influence of Soaking and Germination on the Phytase Activity and Phytic
Acid Content of Grains and Seeds Potentially Useful for Complementary
Feedin. *Journal of Food Science*, 67(9), 3484–3488.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb09609.x>
- Elkhalifa, A. E. O., & Bernhardt, R. (2010). Influence of grain germination on
functional properties of sorghum flour. *Food Chemistry*, 121(2), 387–392.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.12.041>
- Elliot, H., Woods, P., Green, B. D., & Nugent, A. P. (2022). Can sprouting reduce
phytate and improve the nutritional composition and nutrient bioaccessibility
in cereals and legumes? *Nutrition Bulletin*, 47(2), 138–156.
<https://doi.org/10.1111/nbu.12549>
- Englyst, H. N., Kingman, S. M., & Cummings, J. H. (1992). Classification and
measurement of nutritionally important starch fractions. *European Journal of
Clinical Nutrition*, 46 Suppl 2, S33-50.
- Evans, L. T., Wardlaw, I. F., & Fischer, R. A. (1984). Wheat. *Cambridge University
Press*, 101–149.
- FAO. (2022). *The State of Food Security and Nutrition in the World 2022*. FAO.
<https://doi.org/10.4060/cc0639en>

- Farooq, M. A., Ma, W., Shen, S., & Gu, A. (2022). Underlying Biochemical and Molecular Mechanisms for Seed Germination. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(15), 8502. <https://doi.org/10.3390/ijms23158502>
- Gao, F., Rampitsch, C., Chitnis, V. R., Humphreys, G. D., Jordan, M. C., & Ayele, B. T. (2013). Integrated analysis of seed proteome and mRNA oxidation reveals distinct post-transcriptional features regulating dormancy in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Biotechnology Journal*, 11(8), 921–932. <https://doi.org/10.1111/pbi.12083>
- Gao, K., Liu, Y. X., Tan, B., Tian, X. H., Zhang, D. Q., & Wang, L. P. (2022). An insight into the rheology and texture assessment: The influence of sprouting treatment on the whole wheat flour. *Food Hydrocolloids*, 125, 107248. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107248>
- Gebre, B. A., Zhang, C., Li, Z., Sui, Z., & Corke, H. (2024). Impact of starch chain length distributions on physicochemical properties and digestibility of starches. *Food Chemistry*, 435, 137641. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137641>
- Gebruers, K., Dornez, E., Boros, D., Dynkowska, W., Bedő, Z., Rakszegi, M., Delcour, J. A., & Courtin, C. M. (2008). Variation in the Content of Dietary Fiber and Components Thereof in Wheats in the HEALTHGRAIN Diversity Screen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(21), 9740–9749. <https://doi.org/10.1021/jf800975w>
- Ghavidel, R. A., & Prakash, J. (2007). The impact of germination and dehulling on nutrients, antinutrients, in vitro iron and calcium bioavailability and in vitro

- starch and protein digestibility of some legume seeds. *LWT - Food Science and Technology*, 40(7), 1292–1299. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.08.002>
- Giuberti, G., Rocchetti, G., & Lucini, L. (2020). Interactions between phenolic compounds, amylolytic enzymes and starch: An updated overview. *Current Opinion in Food Science*, 31, 102–113. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.04.003>
- Gomes, G. L. B., & Scortecci, K. C. (2021). Auxin and its role in plant development: Structure, signalling, regulation and response mechanisms. *Plant Biology*.
- Gómez, M., Gutkoski, L. C., & Bravo-Núñez, Á. (2020). Understanding whole-wheat flour and its effect in breads: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(6), 3241–3265. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12625>
- Grassi, S., Cardone, G., Bigagnoli, D., & Marti, A. (2018). Monitoring the sprouting process of wheat by non-conventional approaches. *Journal of Cereal Science*, 83, 180–187. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.08.007>
- Grundas, S. T. (2003). WHEAT | Grain Structure of Wheat and Wheat-based Products. En *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* (pp. 6137–6146). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227055-X/01286-4>
- Guiné, R. P. F. (2022). Textural Properties of Bakery Products: A Review of Instrumental and Sensory Evaluation Studies. *Applied Sciences*, 12(17), 8628. <https://doi.org/10.3390/app12178628>
- Gunathunga, C., Senanayake, S., Jayasinghe, M. A., Brennan, C. S., Truong, T., Marapana, U., & Chandrapala, J. (2024). Germination effects on nutritional quality: A comprehensive review of selected cereals and pulses changes.

Journal of Food Composition and Analysis, 128, 106024.

<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2024.106024>

Gupta, S., Sathe, S. K., Su, M., & Liu, C. (2021). Germination reduces black gram (*Vigna mungo*) and mung bean (*Vigna radiata*) vicilin immunoreactivity.

LWT, 135, 110217. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110217>

He, J., Xin, P., Ma, X., Chu, J., & Wang, G. (2020). Gibberellin Metabolism in Flowering Plants: An Update and Perspectives. *Frontiers in Plant Science*,

11, 532. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00532>

Hsu, H. W., Vavak, D. L., Satterlee, L. D., & Miller, G. A. (1977). A MULTIENZYME TECHNIQUE FOR ESTIMATING PROTEIN DIGESTIBILITY. *Journal of*

Food Science, 42(5), 1269–1273. <https://doi.org/10.1111/j.1365->

2621.1977.tb14476.x

Hung, P. V., Maeda, T., Yamamoto, S., & Morita, N. (2012). Effects of germination on nutritional composition of waxy wheat: Nutritional composition of

germinated waxy wheat. *Journal of the Science of Food and Agriculture*,

92(3), 667–672. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4628>

Iglesias-Puig, E., & Haros, M. (2013). Evaluation of performance of dough and bread incorporating chia (*Salvia hispanica* L.). *European Food Research*

and Technology, 237(6), 865–874. <https://doi.org/10.1007/s00217-013->

2067-x

Ikram, A., Saeed, F., Afzaal, M., Imran, A., Niaz, B., Tufail, T., Hussain, M., &

Anjum, F. M. (2021). Nutritional and end-use perspectives of sprouted

grains: A comprehensive review. *Food Science & Nutrition*, 9(8), 4617–4628.

<https://doi.org/10.1002/fsn3.2408>

- International Seed Testing Association. (2021). *ISTA 2021 Rules*.
- Jia, R., Zhang, M., Yang, T., Ma, M., Sun, Q., & Li, M. (2022). Evolution of the morphological, structural, and molecular properties of gluten protein in dough with different hydration levels during mixing. *Food Chemistry: X*, *15*, 100448. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100448>
- Jødal, A.-S. S., & Larsen, K. L. (2021). Investigation of the relationships between the alveograph parameters. *Scientific Reports*, *11*(1), 5349. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84959-3>
- Johnston, R., Martin, J. M., Vetch, J. M., Byker-Shanks, C., Finnie, S., & Giroux, M. J. (2019). Controlled sprouting in wheat increases quality and consumer acceptability of whole-wheat bread. *Cereal Chemistry*, *96*(5), 866–877. <https://doi.org/10.1002/cche.10187>
- Josiah, M., Favier, J., & Yule, I. (1994). Model of moisture uptake by wheat seeds germinating in free water. *Int. Agrophys.*, *8*(2), 251–257.
- Joye, I. (2019). Protein Digestibility of Cereal Products. *Foods*, *8*(6), 199. <https://doi.org/10.3390/foods8060199>
- Katamadze, A., Vergara-Díaz, O., Uberegui, E., Yoldi-Achalandabaso, A., Araus, J. L., & Vicente, R. (2023). Evolution of wheat architecture, physiology, and metabolism during domestication and further cultivation: Lessons for crop improvement. *The Crop Journal*, *11*(4), 1080–1096. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2023.06.006>
- Kaur, H., & Gill, B. S. (2021). Changes in physicochemical, nutritional characteristics and ATR–FTIR molecular interactions of cereal grains during

germination. *Journal of Food Science and Technology*, 58(6), 2313–2324.

<https://doi.org/10.1007/s13197-020-04742-6>

Khaeim, H., Kende, Z., Balla, I., Gyuricza, C., Eser, A., & Tarnawa, Á. (2022). The Effect of Temperature and Water Stresses on Seed Germination and Seedling Growth of Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Sustainability*, 14(7), 3887. <https://doi.org/10.3390/su14073887>

Khalid, A., Hameed, A., & Tahir, M. F. (2023). Wheat quality: A review on chemical composition, nutritional attributes, grain anatomy, types, classification, and function of seed storage proteins in bread making quality. *Frontiers in Nutrition*, 10, 1053196. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1053196>

Kildisheva, O. A., Dixon, K. W., Silveira, F. A. O., Chapman, T., Di Sacco, A., Mondoni, A., Turner, S. R., & Cross, A. T. (2020). Dormancy and germination: Making every seed count in restoration. *Restoration Ecology*, 28(S3). <https://doi.org/10.1111/rec.13140>

Kim, H. R., Choi, S. J., Choi, H.-D., Park, C.-S., & Moon, T. W. (2020). Amylosucrase-modified waxy potato starches recrystallized with amylose: The role of amylopectin chain length in formation of low-digestible fractions. *Food Chemistry*, 318, 126490. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126490>

Kim, M., Kwak, H., & Kim, S. (2018). Effects of Germination on Protein, γ -Aminobutyric Acid, Phenolic Acids, and Antioxidant Capacity in Wheat. *Molecules*, 23(9), 2244. <https://doi.org/10.3390/molecules23092244>

Kim, S. Y., Warpeha, K. M., & Huber, S. C. (2019). The brassinosteroid receptor kinase, BRI1, plays a role in seed germination and the release of dormancy

by cold stratification. *Journal of Plant Physiology*, 241, 153031.

<https://doi.org/10.1016/j.jplph.2019.153031>

Kinnunen, P., Guillaume, J. H. A., Taka, M., D'Odorico, P., Siebert, S., Puma, M. J., Jalava, M., & Kumm, M. (2020). Local food crop production can fulfil demand for less than one-third of the population. *Nature Food*, 1(4), 229–237. <https://doi.org/10.1038/s43016-020-0060-7>

Korompokis, K., & Delcour, J. A. (2023). Components of wheat and their modifications for modulating starch digestion: Evidence from in vitro and in vivo studies. *Journal of Cereal Science*, 113, 103743.

<https://doi.org/10.1016/j.jcs.2023.103743>

Krapf, J., Ding, L., Brühan, J., Lorimer, L., Walther, G., & Flöter, E. (2020). Effect of sprouting temperature on selected properties of wheat flour and direct expanded extrudates. *Journal of Food Process Engineering*, 43(4), e13365.

<https://doi.org/10.1111/jfpe.13365>

Kristó, I., Vályi-Nagy, M., Rácz, A., Irmes, K., Szentpéteri, L., Jolánkai, M., Kovács, G. P., Fodor, M. Á., Ujj, A., Valentinyi, K. V., & Tar, M. (2023). Effects of Nutrient Supply and Seed Size on Germination Parameters and Yield in the Next Crop Year of Winter Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Agriculture*, 13(2), 419. <https://doi.org/10.3390/agriculture13020419>

Kumar, R., Singh, N., & Khatkar, B. S. (2023). Effects of A- and B-type starch granules on composition, structural, thermal, morphological, and pasting properties of starches from diverse wheat varieties. *Food Bioengineering*, 2(4), 373–383. <https://doi.org/10.1002/fbe2.12068>

- Lauro, A. O., Paulo, H. C., & Man, M. K. (2020). New microchondrometer to measure hectoliter weight in small samples of wheat. *African Journal of Agricultural Research*, *15*(4), 524–530.
<https://doi.org/10.5897/AJAR2019.14538>
- Lekjing, S., & Venkatachalam, K. (2020). Effects of germination time and kilning temperature on the malting characteristics, biochemical and structural properties of HomChaiya rice. *RSC Advances*, *10*(28), 16254–16265.
<https://doi.org/10.1039/D0RA01165G>
- Lemmens, E., De Brier, N., Goos, P., Smolders, E., & Delcour, J. A. (2019). Steeping and germination of wheat (*Triticum aestivum* L.). I. Unlocking the impact of phytate and cell wall hydrolysis on bio-accessibility of iron and zinc elements. *Journal of Cereal Science*, *90*, 102847.
<https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.102847>
- Lemmens, E., Deleu, L. J., De Brier, N., Smolders, E., & Delcour, J. A. (2021). Mineral bio-accessibility and intrinsic saccharides in breakfast flakes manufactured from sprouted wheat. *LWT*, *143*, 111079.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111079>
- Lev, J., & Blahovec, J. (2017). Imbibition of wheat seeds: Application of image analysis. *International Agrophysics*, *31*(4), 475–481.
<https://doi.org/10.1515/intag-2016-0072>
- Levy, A. A., & Feldman, M. (2022). Evolution and origin of bread wheat. *The Plant Cell*, *34*(7), 2549–2567. <https://doi.org/10.1093/plcell/koac130>

- Li, C., Hu, Y., & Li, E. (2021). Effects of amylose and amylopectin chain-length distribution on the kinetics of long-term rice starch retrogradation. *Food Hydrocolloids*, *111*, 106239. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106239>
- Li, C., Oh, S.-G., Lee, D.-H., Baik, H.-W., & Chung, H.-J. (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. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.07.123>
- Li, H., Gidley, M. J., & Dhital, S. (2019). High-Amylose Starches to Bridge the “Fiber Gap”: Development, Structure, and Nutritional Functionality. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *18*(2), 362–379. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12416>
- Li, M., Yue, Q., Liu, C., Zheng, X., Hong, J., Wang, N., & Bian, K. (2021). Interaction between gliadin/glutenin and starch granules in dough during mixing. *LWT*, *148*, 111624. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111624>
- Li, N., Guo, Y., Zhao, S., Kong, J., Qiao, D., Lin, L., Lin, Q., & Zhang, B. (2020). Amylose content and molecular-order stability synergistically affect the digestion rate of indica rice starches. *International Journal of Biological Macromolecules*, *144*, 373–379. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.095>
- Li, X., Guo, Y., Chen, L., Liu, K., & Gong, K. (2021). Texture and bio-functional characteristics of a Chinese steamed bread prepared from lotus root powder partially replacing wheat flour. *Scientific Reports*, *11*(1), 16338. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95926-3>

- Lin, J., Gu, Y., & Bian, K. (2019). Bulk and Surface Chemical Composition of Wheat Flour Particles of Different Sizes. *Journal of Chemistry*, 2019, 1–11.
<https://doi.org/10.1155/2019/5101684>
- Liu, Y., Leong, S. Y., & Oey, I. (2023). Applications of high-hydrostatic-pressure processing on microbial enzymes. En *Effect of High-Pressure Technologies on Enzymes* (pp. 331–371). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-98386-0.00013-0>
- Ma, Z., Marsolais, F., Bernardis, M. A., Sumarah, M. W., Bykova, N. V., & Igamberdiev, A. U. (2016). Glyoxylate cycle and metabolism of organic acids in the scutellum of barley seeds during germination. *Plant Science*, 248, 37–44. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2016.04.007>
- Manley, M., Engelbrecht, M. L., Williams, P. C., & Kidd, M. (2009). Assessment of variance in the measurement of hectolitre mass of wheat, using equipment from different grain producing and exporting countries. *Biosystems Engineering*, 103(2), 176–186.
<https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2009.02.018>
- Manz, B., Müller, K., Kucera, B., Volke, F., & Leubner-Metzger, G. (2005). Water Uptake and Distribution in Germinating Tobacco Seeds Investigated in Vivo by Nuclear Magnetic Resonance Imaging. *Plant Physiology*, 138(3), 1538–1551. <https://doi.org/10.1104/pp.105.061663>
- Marco, C., Pérez, G., León, A. E., & Rosell, C. M. (2008). Effect of Transglutaminase on Protein Electrophoretic Pattern of Rice, Soybean, and Rice-Soybean Blends. *Cereal Chemistry*, 85(1), 59–64.
<https://doi.org/10.1094/CCHEM-85-1-0059>

- Marengo, M., Carpen, A., Bonomi, F., Casiraghi, M. C., Meroni, E., Quaglia, L., Iametti, S., Pagani, M. A., & Marti, A. (2017). Macromolecular and Micronutrient Profiles of Sprouted Chickpeas to Be Used for Integrating Cereal-Based Food. *Cereal Chemistry Journal*, *94*(1), 82–88.
<https://doi.org/10.1094/CCHEM-04-16-0108-FI>
- Marti, A., Cardone, G., Nicolodi, A., Quaglia, L., & Pagani, M. A. (2017). Sprouted wheat as an alternative to conventional flour improvers in bread-making. *LWT*, *80*, 230–236. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.02.028>
- Marti, A., Cardone, G., Pagani, M. A., & Casiraghi, M. C. (2018). Flour from sprouted wheat as a new ingredient in bread-making. *LWT*, *89*, 237–243.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.10.052>
- Matilla, A. J. (2020). Auxin: Hormonal Signal Required for Seed Development and Dormancy. *Plants*, *9*(6), 705. <https://doi.org/10.3390/plants9060705>
- Miller, C. O., Skoog, F., Okumura, F. S., Von Saltza, M. H., & Strong, F. M. (1955). STRUCTURE AND SYNTHESIS OF KINETIN¹. *Journal of the American Chemical Society*, *77*(9), 2662–2663. <https://doi.org/10.1021/ja01614a108>
- Miransari, M., & Smith, D. L. (2014). Plant hormones and seed germination. *Environmental and Experimental Botany*, *99*, 110–121.
<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2013.11.005>
- Miura, K., & Tada, Y. (2014). Regulation of water, salinity, and cold stress responses by salicylic acid. *Frontiers in Plant Science*, *5*.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00004>
- Monteiro, J. S., Farage, P., Zandonadi, R. P., Botelho, R. B. A., De Oliveira, L. D. L., Raposo, A., Shakeel, F., Alshehri, S., Mahdi, W. A., & Araújo, W. M. C.

- (2021). A Systematic Review on Gluten-Free Bread Formulations Using Specific Volume as a Quality Indicator. *Foods*, 10(3), 614.
<https://doi.org/10.3390/foods10030614>
- Montemurro, M., Pontonio, E., Gobbetti, M., & Rizzello, C. G. (2019). Investigation of the nutritional, functional and technological effects of the sourdough fermentation of sprouted flours. *International Journal of Food Microbiology*, 302, 47–58. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.08.005>
- Moongngarm, A., & Saetung, N. (2010). Comparison of chemical compositions and bioactive compounds of germinated rough rice and brown rice. *Food Chemistry*, 122(3), 782–788.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.053>
- Moshatati, A., & Gharineh, M. H. (2012). *Effect of grain weight on germination and seed vigor of wheat*.
- Müntz, K., Belozersky, M. A., Dunaevsky, Y. E., Schlereth, A., & Tiedemann, J. (2001). Stored proteinases and the initiation of storage protein mobilization in seeds during germination and seedling growth. *Journal of Experimental Botany*, 52(362), 1741–1752. <https://doi.org/10.1093/jexbot/52.362.1741>
- Nagaoka, H. (2008). Treatment of Germinated Wheat to Increase Levels of GABA and IP6 Catalyzed by Endogenous Enzymes. *Biotechnology Progress*, 21(2), 405–410. <https://doi.org/10.1021/bp0496777>
- Naumenko, N., Potoroko, I., Kalinina, I., Fatkullin, R., & Ivanisova, E. (2021). The Influence of the Use of Whole Grain Flour from Sprouted Wheat Grain on the Rheological and Microstructural Properties of Dough and Bread.

International Journal of Food Science, 2021, 1–9.

<https://doi.org/10.1155/2021/7548759>

Née, G., Xiang, Y., & Soppe, W. J. (2017). The release of dormancy, a wake-up call for seeds to germinate. *Current Opinion in Plant Biology*, 35, 8–14.

<https://doi.org/10.1016/j.pbi.2016.09.002>

Nkhata, S. G., Ayua, E., Kamau, E. H., & Shingiro, J. (2018). Fermentation and germination improve nutritional value of cereals and legumes through activation of endogenous enzymes. *Food Science & Nutrition*, 6(8), 2446–2458. <https://doi.org/10.1002/fsn3.846>

Noronha, H., Silva, A., Dai, Z., Gallusci, P., Rombolà, A. D., Delrot, S., & Gerós, H. (2018). A molecular perspective on starch metabolism in woody tissues.

Planta, 248(3), 559–568. <https://doi.org/10.1007/s00425-018-2954-2>

Nyachiro, J. M., Clarke, F. R., DePauw, R. M., Knox, R. E., & Armstrong, K. C. (2002). Temperature effects on seed germination and expression of seed dormancy in wheat. *Euphytica*, 126(1), 123–127.

<https://doi.org/10.1023/A:1019694800066>

Nyysölä, A., Ellilä, S., Nordlund, E., & Poutanen, K. (2020). Reduction of FODMAP content by bioprocessing. *Trends in Food Science & Technology*, 99, 257–272. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.03.004>

Obadi, M., Li, C., Li, Q., Li, X., Qi, Y., & Xu, B. (2020). Relationship between starch fine molecular structures and cooked wheat starch digestibility. *Journal of Cereal Science*, 95, 103047. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2020.103047>

- Oghbaei, M., & Prakash, J. (2016). Effect of primary processing of cereals and legumes on its nutritional quality: A comprehensive review. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1). <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1136015>
- Ogilvie, O., Roberts, S., Sutton, K., Gerrard, J., Larsen, N., & Domigan, L. (2021). The effect of dough mixing speed and work input on the structure, digestibility and celiac immunogenicity of the gluten macropolymer within bread. *Food Chemistry*, 359, 129841. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129841>
- Onyango, C., Mutungi, C., Unbehend, G., & Lindhauer, M. G. (2010). Rheological and baking characteristics of batter and bread prepared from pregelatinised cassava starch and sorghum and modified using microbial transglutaminase. *Journal of Food Engineering*, 97(4), 465–470. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.11.002>
- Osella, C. A., Sánchez, H. D., Carrara, C. R., De La Torre, M. A., & Pilar Buera, M. (2005). Water Redistribution and Structural Changes of Starch During Storage of a Gluten-free Bread. *Starch - Stärke*, 57(5), 208–216. <https://doi.org/10.1002/star.200400330>
- Ostadian Bidgoly, R., Balouchi, H., Soltani, E., & Moradi, A. (2018). Effect of temperature and water potential on *Carthamus tinctorius* L. seed germination: Quantification of the cardinal temperatures and modeling using hydrothermal time. *Industrial Crops and Products*, 113, 121–127. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.01.017>
- Oyeyinka, S. A., & Basse, I.-A. V. (2023). Composition, Functionality, and Baking Quality of Flour from Four Brands of Wheat Flour. *Journal of Culinary*

Science & Technology, 1–21.

<https://doi.org/10.1080/15428052.2023.2191874>

Ozden, E., Light, M. E., & Demir, I. (2021). Alternating temperatures increase germination and emergence in relation to endogenous hormones and enzyme activities in aubergine seeds. *South African Journal of Botany*, 139, 130–139. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.02.015>

Pagand, J., Heirbaut, P., Pierre, A., & Pareyt, B. (2017). The Magic and Challenges of Sprouted Grains. *Cereal Foods World*, 62(5), 221–226.

<https://doi.org/10.1094/CFW-62-5-0221>

Parihar, P., Singh, S., Singh, R., Singh, V. P., & Prasad, S. M. (2015). Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: A review. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(6), 4056–4075.

<https://doi.org/10.1007/s11356-014-3739-1>

Pasqualone, A., Laddomada, B., Centomani, I., Paradiso, V. M., Minervini, D., Caponio, F., & Summo, C. (2017). Bread making aptitude of mixtures of re-milled semolina and selected durum wheat milling by-products. *LWT*, 78, 151–159. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.12.032>

Pauwels, L., Inzé, D., & Goossens, A. (2009). Jasmonate-inducible gene: What does it mean? *Trends in Plant Science*, 14(2), 87–91.

<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.11.005>

Peñaranda, J. D., Bueno, M., Álvarez, F., Pérez, P. D., & Perezábad, L. (2021). Sprouted grains in product development. Case studies of sprouted wheat for baking flours and fermented beverages. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 25, 100375. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2021.100375>

- Peñas, E., & Martínez-Villaluenga, C. (2020). Advances in Production, Properties and Applications of Sprouted Seeds. *Foods*, 9(6), 790.
<https://doi.org/10.3390/foods9060790>
- Perri, G., Minisci, A., Montemurro, M., Pontonio, E., Verni, M., & Rizzello, C. G. (2023). Exploitation of sprouted barley grains and flour through sourdough fermentation. *LWT*, 187, 115326. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115326>
- Poudel, R., Finnie, S., & Rose, D. J. (2019). Effects of wheat kernel germination time and drying temperature on compositional and end-use properties of the resulting whole wheat flour. *Journal of Cereal Science*, 86, 33–40.
<https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.01.004>
- Qi, K., Yi, X., & Li, C. (2022). Effects of endogenous macronutrients and processing conditions on starch digestibility in wheat bread. *Carbohydrate Polymers*, 295, 119874. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119874>
- Rathnayake, H. A., Navaratne, S. B., & Navaratne, C. M. (2018). Porous Crumb Structure of Leavened Baked Products. *International Journal of Food Science*, 2018, 1–15. <https://doi.org/10.1155/2018/8187318>
- Rathod, M. L., & Kokini, J. L. (2013). Effect of mixer geometry and operating conditions on mixing efficiency of a non-Newtonian fluid in a twin screw mixer. *Journal of Food Engineering*, 118(3), 256–265.
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.04.020>
- Reynolds, M. P., & Braun, H.-J. (2022). Wheat Improvement. En M. P. Reynolds & H.-J. Braun (Eds.), *Wheat Improvement* (pp. 3–15). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-90673-3_1

- Richter, K., Christiansen, K., & Guo, G. (2014). Wheat Sprouting Enhances Bread Baking Performance. *Cereal Foods World*, 59(5), 231–233.
<https://doi.org/10.1094/CFW-59-5-0231>
- Rosa-Sibakov, N., Poutanen, K., & Micard, V. (2015). How does wheat grain, bran and aleurone structure impact their nutritional and technological properties? *Trends in Food Science & Technology*, 41(2), 118–134.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.10.003>
- Rosental, L., Nonogaki, H., & Fait, A. (2014). Activation and regulation of primary metabolism during seed germination. *Seed Science Research*, 24(1), 1–15.
<https://doi.org/10.1017/S0960258513000391>
- Roushannafas, T., Bogaard, A., & Charles, M. (2023). Geometric morphometric analysis of Neolithic wheat grains: Insights into the early development of free-threshing forms. *Vegetation History and Archaeobotany*, 32(6), 597–613. <https://doi.org/10.1007/s00334-023-00929-x>
- Santoro, V., Schiavon, M., Gresta, F., Ertani, A., Cardinale, F., Sturrock, C. J., Celi, L., & Schubert, A. (2020). Strigolactones Control Root System Architecture and Tip Anatomy in *Solanum lycopersicum* L. Plants under P Starvation. *Plants*, 9(5), 612. <https://doi.org/10.3390/plants9050612>
- Schuster, C., Huen, J., & Scherf, K. A. (2023). Comprehensive study on gluten composition and baking quality of winter wheat. *Cereal Chemistry*, 100(1), 142–155. <https://doi.org/10.1002/cche.10606>
- Sedaghat, M., Tahmasebi-Sarvestani, Z., Emam, Y., & Mokhtassi-Bidgoli, A. (2017). Physiological and antioxidant responses of winter wheat cultivars to

- strigolactone and salicylic acid in drought. *Plant Physiology and Biochemistry*, 119, 59–69. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.08.015>
- Shahwani, A. R., Baloch, S. U., Baloch, S. K., Mengal, B., Bashir, W., Baloch, N., Baloch, R. A., Sial, A. H., Sabiel, S. A. I., Razzaq, K., Ahmed, A., & Mengal, A. (2014). *INFLUENCE OF SEED SIZE ON GERMINABILITY AND GRAIN*.
- Sharma, S., Singh, V., Tanwar, H., Mor, V. S., Kumar, M., Punia, R. C., Dalal, M. S., Khan, M., Sangwan, S., Bhuker, A., Dagar, C. S., Yashveer, S., & Singh, J. (2022). Impact of High Temperature on Germination, Seedling Growth and Enzymatic Activity of Wheat. *Agriculture*, 12(9), 1500. <https://doi.org/10.3390/agriculture12091500>
- Shen, S., Chi, C., Zhang, Y., Li, L., Chen, L., & Li, X. (2021). New insights into how starch structure synergistically affects the starch digestibility, texture, and flavor quality of rice noodles. *International Journal of Biological Macromolecules*, 184, 731–738. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.06.151>
- Shewry, P. R., & Hey, S. J. (2015). The contribution of wheat to human diet and health. *Food and Energy Security*, 4(3), 178–202. <https://doi.org/10.1002/fes3.64>
- Shewry, P. R., & Hey, S. J. (2016). Do we need to worry about eating wheat? *Nutrition Bulletin*, 41(1), 6–13. <https://doi.org/10.1111/nbu.12186>
- Shiferaw, B., Smale, M., Braun, H.-J., Duveiller, E., Reynolds, M., & Muricho, G. (2013). Crops that feed the world 10. Past successes and future challenges to the role played by wheat in global food security. *Food Security*, 5(3), 291–317. <https://doi.org/10.1007/s12571-013-0263-y>

- Shivaraj, B., Rao, H. N., & Pattabiraman, T. N. (1982). Natural plant enzyme inhibitors. Isolation of a trypsin/ α -amylase inhibitor and a chymotrypsin/trypsin inhibitor from ragi (*Eleusine coracana*) grains by affinity chromatography and study of their properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 33(11), 1080–1091.
<https://doi.org/10.1002/jsfa.2740331105>
- Shu, K., Liu, X., Xie, Q., & He, Z. (2016). Two Faces of One Seed: Hormonal Regulation of Dormancy and Germination. *Molecular Plant*, 9(1), 34–45.
<https://doi.org/10.1016/j.molp.2015.08.010>
- Shuai, H., Meng, Y., Luo, X., Chen, F., Zhou, W., Dai, Y., Qi, Y., Du, J., Yang, F., Liu, J., Yang, W., & Shu, K. (2017). Exogenous auxin represses soybean seed germination through decreasing the gibberellin/abscisic acid (GA/ABA) ratio. *Scientific Reports*, 7(1), 12620. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-13093-w>
- Sibian, M. S., Saxena, D. C., & Riar, C. S. (2017). Effect of germination on chemical, functional and nutritional characteristics of wheat, brown rice and triticale: A comparative study: Some characteristics of germinated wheat, brown rice and triticale. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(13), 4643–4651. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8336>
- Siddiqi, R. A., Singh, T. P., Rani, M., Sogi, D. S., & Bhat, M. A. (2020). Diversity in Grain, Flour, Amino Acid Composition, Protein Profiling, and Proportion of Total Flour Proteins of Different Wheat Cultivars of North India. *Frontiers in Nutrition*, 7, 141. <https://doi.org/10.3389/fnut.2020.00141>

- Singh, J., Dartois, A., & Kaur, L. (2010). Starch digestibility in food matrix: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 21(4), 168–180.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.12.001>
- Singh, A. k., Rehal, J., Kaur, A., & Jyot, G. (2015). Enhancement of Attributes of Cereals by Germination and Fermentation: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(11), 1575–1589.
<https://doi.org/10.1080/10408398.2012.706661>
- Singh, N., Jha, A., Chaudhary, A., & Upadhyay, A. (2014). Enhancement of the functionality of bread by incorporation of Shatavari (*Asparagus racemosus*). *Journal of Food Science and Technology*, 51(9), 2038–2045.
<https://doi.org/10.1007/s13197-012-0731-y>
- Singkhornart, S., Gu, B.-J., & Ryu, G. H. (2013). Physicochemical properties of extruded germinated wheat and barley as modified by CO₂ injection and difference extrusion conditions. *International Journal of Food Science & Technology*, 48(2), 290–299. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03186.x>
- Sinha, K., Kaur, R., Singh, N., Kaur, S., Rishi, V., & Bhunia, R. K. (2020). Mobilization of storage lipid reserve and expression analysis of lipase and lipoxygenase genes in rice (*Oryza sativa* var. Pusa Basmati 1) bran during germination. *Phytochemistry*, 180, 112538.
<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2020.112538>
- Sliwinski, E. L., Kolster, P., & Van Vliet, T. (2004). Large-deformation properties of wheat dough in uni- and biaxial extension. Part I. Flour dough. *Rheologica Acta*, 43(4), 306–320. <https://doi.org/10.1007/s00397-003-0344-5>

- Smith, F., Pan, X., Bellido, V., Toole, G. A., Gates, F. K., Wickham, M. S. J., Shewry, P. R., Bakalis, S., Padfield, P., & Mills, E. N. C. (2015). Digestibility of gluten proteins is reduced by baking and enhanced by starch digestion. *Molecular Nutrition & Food Research*, *59*(10), 2034–2043. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201500262>
- Sollid, L. M. (2000). Molecular Basis of Celiac Disease. *Annual Review of Immunology*, *18*(1), 53–81. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.18.1.53>
- Sreenivasulu, N., Radchuk, V., Alawady, A., Borisjuk, L., Weier, D., Staroske, N., Fuchs, J., Miersch, O., Strickert, M., Usadel, B., Wobus, U., Grimm, B., Weber, H., & Weschke, W. (2010). De-regulation of abscisic acid contents causes abnormal endosperm development in the barley mutant *seg8*: ABA and endo-polyploidization in barley endosperm. *The Plant Journal*, *64*(4), 589–603. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2010.04350.x>
- Sreenivasulu, N., Radchuk, V., Alawady, A., Borisjuk, L., Weier, D., Staroske, N., Miersch, O., & Strickert, M. (2010). Deregulation of abscisic acid contents causes abnormal endosperm development in the barley mutant *seg8*. *The Plant Journal*.
- Stern, A. L., Berstein, J., Jones, S. S., Blumberg, J. B., & Griffin, T. S. (2021). The impacts of germinating organic wheat: Effects on phytic acid, resistant starch, and functional properties of flour, and sensory attributes of sourdough bread. *International Journal of Food Science & Technology*, *56*(8), 3858–3865. <https://doi.org/10.1111/ijfs.15002>
- Sun, W., Zhang, W., Xu, Y., Wang, P., & Shen, W. (2023). Dough rheology, pasting property, and steamed bread quality of wheat flour as affected by the

- addition of sprouted wheat flour. *International Journal of Food Properties*, 26(1), 2160–2170. <https://doi.org/10.1080/10942912.2023.2244699>
- Świeca, M., & Dżiki, D. (2015). Improvement in sprouted wheat flour functionality: Effect of time, temperature and elicitation. *International Journal of Food Science & Technology*, 50(9), 2135–2142. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12881>
- Świeca, M., Dżiki, D., & Gawlik-Dżiki, U. (2017). Starch and protein analysis of wheat bread enriched with phenolics-rich sprouted wheat flour. *Food Chemistry*, 228, 643–648. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.052>
- Szewińska, J., Simińska, J., & Bielawski, W. (2016). The roles of cysteine proteases and phytocystatins in development and germination of cereal seeds. *Journal of Plant Physiology*, 207, 10–21. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2016.09.008>
- Tan-Wilson, A. L., & Wilson, K. A. (2012). Mobilization of seed protein reserves. *Physiologia Plantarum*, 145(1), 140–153. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2011.01535.x>
- Tian, C., Wang, Y., Yang, T., Sun, Q., Ma, M., & Li, M. (2022). Evolution of Physicochemical Properties, Phenolic Acid Accumulation, and Dough-Making Quality of Whole Wheat Flour During Germination Under UV-B Radiation. *Frontiers in Nutrition*, 9, 877324. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.877324>
- Tinus, T., Damour, M., Van Riel, V., & Sopade, P. A. (2012). Particle size-starch–protein digestibility relationships in cowpea (*Vigna unguiculata*). *Journal of Food Engineering*, 113(2), 254–264. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.05.041>

- Tomé-Sánchez, I., Martín-Diana, A. B., Peñas, E., Bautista-Expósito, S., Frias, J., Rico, D., González-Maillo, L., & Martínez-Villaluenga, C. (2020). Soluble Phenolic Composition Tailored by Germination Conditions Accompany Antioxidant and Anti-Inflammatory Properties of Wheat. *Antioxidants*, *9*(5), 426. <https://doi.org/10.3390/antiox9050426>
- Tóth, M., Kaszab, T., & Meretei, A. (2022). Texture profile analysis and sensory evaluation of commercially available gluten-free bread samples. *European Food Research and Technology*, *248*(6), 1447–1455. <https://doi.org/10.1007/s00217-021-03944-2>
- Tsai, C.-L., Sugiyama, J., Shibata, M., Kokawa, M., Fujita, K., Tsuta, M., Nabetani, H., & Araki, T. (2012). Changes in the Texture and Viscoelastic Properties of Bread Containing Rice Porridge during Storage. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, *76*(2), 331–335. <https://doi.org/10.1271/bbb.110722>
- Upadhyay, R., Ghosal, D., & Mehra, A. (2012). Characterization of bread dough: Rheological properties and microstructure. *Journal of Food Engineering*, *109*(1), 104–113. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.09.028>
- Uppal, V., & Bains, K. (2012). Effect of germination periods and hydrothermal treatments on in vitro protein and starch digestibility of germinated legumes. *Journal of Food Science and Technology*, *49*(2), 184–191. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0273-8>
- Van Hung, P., Maeda, T., & Morita, N. (2015). Improvement of nutritional composition and antioxidant capacity of high-amylose wheat during germination. *Journal of Food Science and Technology*, *52*(10), 6756–6762. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1730-6>

- Vishal, B., & Kumar, P. P. (2018). Regulation of Seed Germination and Abiotic Stresses by Gibberellins and Abscisic Acid. *Frontiers in Plant Science*, 9, 838. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00838>
- Wanasundara, P. K. J. P. D., Wanasundara, U. N., & Shahidi, F. (1999). Changes in flax (*Linum usitatissimum* L.) seed lipids during germination. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76(1), 41–48. <https://doi.org/10.1007/s11746-999-0045-z>
- Wang, L., Xie, B., Xiong, G., Du, X., Qiao, Y., & Liao, L. (2012). Study on the granular characteristics of starches separated from Chinese rice cultivars. *Carbohydrate Polymers*, 87(2), 1038–1044. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.08.006>
- Wang, Q., Li, L., & Zheng, X. (2020). A review of milling damaged starch: Generation, measurement, functionality and its effect on starch-based food systems. *Food Chemistry*, 315, 126267. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126267>
- Wang, Y., & Jian, C. (2022). Sustainable plant-based ingredients as wheat flour substitutes in bread making. *Npj Science of Food*, 6(1), 49. <https://doi.org/10.1038/s41538-022-00163-1>
- Wang, Y., Ral, J.-P., Saulnier, L., & Kansou, K. (2022). How Does Starch Structure Impact Amylolysis? Review of Current Strategies for Starch Digestibility Study. *Foods*, 11(9), 1223. <https://doi.org/10.3390/foods11091223>
- Wani, S. H., Kumar, V., Shriram, V., & Sah, S. K. (2016). Phytohormones and their metabolic engineering for abiotic stress tolerance in crop plants. *The Crop Journal*, 4(3), 162–176. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2016.01.010>

- Weegels, P. L., Hamer, R. J., & Schofield, J. D. (1997). Depolymerisation and Repolymerisation of Wheat Glutenin During Dough Processing. II. Changes in Composition. *Journal of Cereal Science*, 25(2), 155–163.
<https://doi.org/10.1006/jcrs.1996.0082>
- Wieser, H. (2007). Chemistry of gluten proteins. *Food Microbiology*, 24(2), 115–119. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2006.07.004>
- Willis, C. G., Baskin, C. C., Baskin, J. M., Auld, J. R., Venable, D. L., Cavender-Bares, J., Donohue, K., Rubio De Casas, R., & The NESCent Germination Working Group. (2014). The evolution of seed dormancy: Environmental cues, evolutionary hubs, and diversification of the seed plants. *New Phytologist*, 203(1), 300–309. <https://doi.org/10.1111/nph.12782>
- Wink, M. (1997). Special Nitrogen Metabolism. En *Plant Biochemistry* (pp. 439–486). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-012214674-9/50013-8>
- Yang, P., Li, X., Wang, X., Chen, H., Chen, F., & Shen, S. (2007). Proteomic analysis of rice (*Oryza sativa*) seeds during germination. *PROTEOMICS*, 7(18), 3358–3368. <https://doi.org/10.1002/pmic.200700207>
- Yao, Y., Xin, M., Ni, Z., & Sun, Q. (2020). Importance of small RNA in plant seed germination. En *Plant Small RNA* (pp. 117–123). Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817112-7.00006-7>
- Yazar, G. (2023). Wheat Flour Quality Assessment by Fundamental Non-Linear Rheological Methods: A Critical Review. *Foods*, 12(18), 3353.
<https://doi.org/10.3390/foods12183353>
- Ye, X., Zhang, Y., Qiu, C., Corke, H., & Sui, Z. (2019). Extraction and characterization of starch granule-associated proteins from rice that affect in

in vitro starch digestibility. *Food Chemistry*, 276, 754–760.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.10.042>

You, S.-Y., Oh, S.-G., Han, H. M., Jun, W., Hong, Y.-S., & Chung, H.-J. (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. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.11.023>

Zabihi-e-Mahmoodabad, R., Jamaati-e-Somarin, S., & Khayatnezhad, M. (2011).

Effect of Cold Stress on Germination and Growth of Wheat Cultivars.

Zhang, C., Zhou, L., Lu, Y., Yang, Y., Feng, L., Hao, W., Li, Q., Fan, X., Zhao, D., &

Liu, Q. (2020). Changes in the physicochemical properties and starch structures of rice grains upon pre-harvest sprouting. *Carbohydrate Polymers*, 234, 115893. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.115893>

Zhang, G., Xu, Z., Gao, Y., Huang, X., Zou, Y., & Yang, T. (2015). Effects of

Germination on the Nutritional Properties, Phenolic Profiles, and Antioxidant Activities of Buckwheat. *Journal of Food Science*, 80(5).

<https://doi.org/10.1111/1750-3841.12830>

Zhang, N., & Jones, B. L. (1995). Characterization of germinated barley

endoproteolytic enzymes by two-dimensional gel electrophoresis. *Journal of Cereal Science*, 21(2), 145–153. [https://doi.org/10.1016/0733-5210\(95\)90030-6](https://doi.org/10.1016/0733-5210(95)90030-6)

Zhou, X., Yu, W., & Li, C. (2021). Protein content correlates with the in vitro starch digestibility of raw barley flour. *Food Bioscience*, 43, 101292.

<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101292>

Zhuo, J., Wang, K., Wang, N., Xing, C., Peng, D., Wang, X., Qu, G., Kang, C., Ye, X., Li, Y., Yan, Y., & Li, X. (2023). Pericarp starch metabolism is associated with caryopsis development and endosperm starch accumulation in common wheat. *Plant Science*, 330, 111622.

<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2023.111622>

Žilić, S., Janković, M., Barać, M., Pešić, M., Konić-Ristić, A., & Hadži-Tašković Šukalović, V. (2016). Effects of enzyme activities during steeping and sprouting on the solubility and composition of proteins, their bioactivity and relationship with the bread making quality of wheat flour. *Food & Function*, 7(10), 4323–4331. <https://doi.org/10.1039/C6FO01095D>

Zou, J., Zhang, Y., Zhang, Y., Bian, Z., Fanourakis, D., Yang, Q., & Li, T. (2019). Morphological and physiological properties of indoor cultivated lettuce in response to additional far-red light. *Scientia Horticulturae*, 257, 108725.

<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108725>