



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos
FACULTAD DE QUÍMICA

“Evaluación de los cambios en las propiedades fisicoquímicas, perfil de carbohidratos y almidón resistente durante la germinación de maíz criollo”

TESIS
PARA OBTENER EL TÍTULO DE
Maestro en Ciencia y Tecnología de Alimentos

PRESENTA
Ing. Edgar Alejandro Esquivel Fajardo

DIRIGIDO POR
Dra. Marcela Gaytán Martínez

Santiago de Querétaro, Qro. Abril, 2024

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciatario no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:

 **Atribución** — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciatario.

 **NoComercial** — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).

 **SinDerivadas** — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

“Evaluación de los cambios en las propiedades fisicoquímicas, perfil de carbohidratos y
almidón resistente durante la germinación de maíz criollo”

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Maestro en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Presenta:

Ing. Edgar Alejandro Esquivel Fajardo

Dirigido por:

Dra. Marcela Gaytán Martínez

Dra. Marcela Gaytán Martínez

Director

Dr. Mario Enrique Rodríguez García

Co-Director

Dr. Ricardo Ernesto Preciado

Vocal

Dra. Rosalía Reynoso Camacho

Suplente

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña

Suplente

Nombre y Firma
Director de la Facultad

Nombre y Firma
Director de Investigación y Posgrado

Centro Universitario Querétaro, Qro.

Dedicatoria

Le dedico el resultado de este trabajo a toda mi familia. Principalmente, a mi madre y hermano que me apoyaron y contuvieron los malos momentos, así como me acompañaron en los buenos. De igual manera, a mis más grandes amigos Ing. María Guadalupe Nieves Hernández, Ing. Brenda Lizbeth Correa Piña, Lic. Kristal Shanik Gutierrez Ochoa, Ing. Julio David Carranza Corza y Dr. Raúl Enrique Cauzor Camacho, por sus conversaciones, su apoyo incondicional y por ser una fuente constante de inspiración y motivación.

Agradecimientos

Esta tesis no hubiera sido posible sin el apoyo de varias personas e instituciones a las que el autor quiere mostrar su agradecimiento. En primer lugar, le agradezco a mi madre y hermano quienes siempre me han brindado su apoyo incondicional para poder cumplir todos mis objetivos personales y académicos.

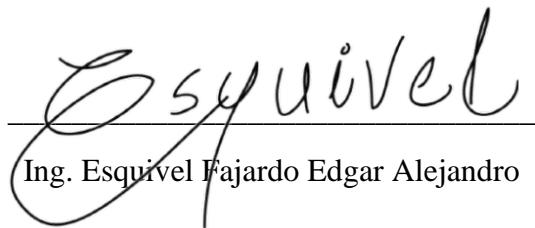
Le agradezco muy profundamente a mi tutora Dra. Marcela Gaytán Martínez por su dedicación, paciencia y cariño, sin su orientación no hubiese podido alcanzar esta meta. Gracias por su guía y todos sus consejos. De igual manera a mi codirector Dr. Mario Enrique Rodríguez García quien ha fungido como asesor y padre, sin el cual no hubiese llegado hasta este punto en mi carrera profesional.

Son muchos los docentes que han formado parte de mi camino a lo largo de la maestría, y a todos ellos les quiero agradecer por transmitirme los conocimientos necesarios para hoy poder estar aquí. No obstante, me gustaría hacer una mención especial a la Dra. Rosalía Reynoso Camacho a quien admiro y aprecio profundamente. La Dra. Sandra Olimpia Mendoza Díaz en quien encontré no solo una gran mentora, también una fuente de inspiración y amiga. La Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña de quien agradezco su apoyo incondicional y mentorías, sin duda la Dra. Flavia ha sido parte fundamental para lograr culminar este proceso. Por último, me gustaría agradecer a todos esos profesores que desempeñaron un papel crucial en mi desarrollo académico previo.

De igual manera me gustaría agradecer a las instituciones que apoyaron esta investigación. Laboratorio de propiedades fisicoquímicas - Centro de Investigación en Ciencias Aplicadas y Tecnología Avanzada del Instituto Politécnico Nacional, Campus Querétaro, dirigido por el Dr. Eduardo Morales Sánchez. Cuerpo Académico de Tecnologías de la Información y Comunicación Aplicada (TICA-UPQ), especialmente al Dr. Cristian Felipe Ramírez Gutiérrez. Laboratorio Sustainable Bioproductos - Tec de Monterrey, Campus Querétaro, Dirigido por la Dra. Aurea Karina Ramírez Jiménez. Así como al Laboratorio de Alimentos 1 – Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, UNAM Campus Querétaro.

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DE ESTUDIANTE:

Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que reporto detalles necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras. Finalmente, este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual se declaró y dio reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentadas en el documento.



Ing. Esquivel Fajardo Edgar Alejandro

Resumen

La germinación resulta un método efectivo para mejorar el perfil nutricional de cereales aumentando la cantidad de aminoácidos, fibra y minerales, mientras que disminuyen lípidos y carbohidratos. Sin embargo, los cambios en el almidón, sus propiedades fisicoquímicas, componentes y digestión *in vitro* durante la germinación aun no son claros. El objetivo de este trabajo fue determinar los cambios en el perfil de carbohidratos de harinas germinadas, así como las propiedades fisicoquímicas y digestión *in vitro* del almidón aislado durante la germinación de maíz criollo. Las micrografías mostraron que, a pesar del prolongado periodo de germinación no todo el almidón se ve afectado. Algunos almidones desarrollan canales que conducen al centro de los gránulos, resultando en cambios en sus propiedades fisicoquímicas. Con respecto al cambio en el perfil de carbohidratos la sacarosa es consumida a partir del primer día de remojo como fuente inicial de energía. Posteriormente, glucosas y maltosas son liberadas al medio lo que contribuye a un aumento en la concentración de azúcares reductores como resultado de la hidrolisis parcial del almidón, así como rafinadas debido a la degradación de paredes celulares. Los termogramas de calorimetría de barrido mostraron transiciones a 100 °C correspondientes a complejos almidón-lípidos (SLC) tipo I. Debido a la hidrolisis de amilosa y amilopectina, la liberación de azúcares y la formación de SLC la viscosidad aparente del almidón disminuye en función de tiempo de germinación. Finalmente, el almidón de rápida digestión aumenta durante el tercer día de germinación, mientras que el almidón de lenta digestión se encuentra en mayor proporción en el primer y sexto día de germinación. El almidón resistente (AR) disminuye en función del tiempo de germinación hasta el sexto día a partir del cual permanece invariable y puede considerarse como AR tipo 2, ya que los patrones de difracción no mostraron cambios.

Palabras clave: Germinación, almidón, perfil de carbohidratos y almidón resistente.

Abstract

Germination is an effective method to improve the nutritional value of cereals by increasing the amount of amino acids, fiber and minerals, while decreasing the levels of fatty acids and carbohydrates. However, the changes in starch, its physicochemical properties, components and in-vitro digestibility during germination remains an open problem. The aim of this work was to investigate the changes in the carbohydrate profile of germinated flours, as well as the physicochemical changes and in-vitro digestive properties of germinated isolated native maize starch. SEM micrographs showed that, despite the long germination period, not all granules are affected. Some starch granules developed channels that extend to the core of the starch granules, resulting in changes in their physicochemical properties. Regarding the change in the carbohydrate profile, sucrose is consumed from the first day of soaking as an initial source of energy. Subsequently, glucose and maltose are released into the medium, which contributes to an increase in the concentration of reducing sugars due to the partial hydrolysis of starch, as well as raffinose due to the degradation of cell walls. The Differential Scanning Calorimetry thermograms showed a thermal transition at 100 °C corresponding to starch-lipid complexes (SLC) type I. Due to the hydrolysis of amylose and amylopectin, the release of sugars and the formation of SLC, the apparent viscosity of starch decreases as a function of time of germination. Finally, rapidly digestible starch increases during the third day of germination, while slowly digestible starch is found in a greater proportion during the first and sixth days of germination. Resistant starch (RS) decreases depending on germination time until the sixth day after which it remains unchanged and can be considered as type 2 AR, since the diffraction patterns did not show changes.

Keywords: Germination, starch, carbohydrate profile and resistant starch.

Índice General

I.	Introducción.....	1
II.	Antecedentes.....	4
	1. Germinados.....	4
	2. Maíz.....	7
	3. Maíces criollos.....	8
	4. Almidón.....	10
	4.1. Amilosa.....	10
	4.2. Amilopectina.....	12
	4.3. Componentes minoritarios del almidón.....	14
	4.4. Morfología de los gránulos de almidón.....	16
	4.5. Estructura cristalina y arreglo doble hélice del almidón.....	18
	5. Germinación.....	20
	5.1. Dormancia.....	21
	5.2. Cambios fisiológicos y estructurales durante la germinación.....	21
	6. Almidón durante la germinación.....	24
	7. Almidón resistente.....	30
	7.1. Almidón resistente durante la germinación.....	31
III.	Justificación.....	32
IV.	Objetivos.....	33
V.	Materiales y métodos.....	34
	5.1. Materiales.....	34
	5.2. Germinación.....	34
	5.3. Obtención de almidón.....	34
	5.4. Cambios en el perfil de carbohidratos	
	5.4.1. Contenido aparente de amilosa.....	35
	5.4.2. Azúcares reductores.....	35
	5.4.3. Contenido de carbohidratos solubles.....	35
	5.4.4. Almidón resistente.....	35
	5.5. Caracterización fisicoquímica de los almidones obtenidos durante la germinación	
	5.5.1. Morfología por microscopía electrónica de barrido.....	36
	5.5.2. Identificación de la fase cristalina por difracción de Rayos-X.....	36
	5.5.3. Análisis vibracional por espectroscopía infrarroja.....	36
	5.5.4. Viscosidad aparente.....	36
	5.5.5. Propiedades térmicas del almidón.....	37
	5.6. Diseño y análisis estadístico.....	37
VI.	Resultados y discusión.....	38
	1. Cambios morfológicos en los gránulos de maíz.....	38
	2. Cambios morfológicos en el almidón de maíz aislado.....	40

3.	Cambios en el perfil de carbohidratos durante la germinación.....	43
3.1.	Amilosa aparente.....	43
3.2.	Azúcares reductores.....	44
3.3.	Cambios en el perfil de carbohidratos.....	45
4.	Caracterización fisicoquímica del almidón.....	48
4.1.	Cambios estructurales.....	48
4.2.	Perfil reológico y propiedades térmicas del almidón durante la germinación	
4.2.1.	Propiedades térmicas.....	50
4.2.2.	Perfil reológico.....	51
5.	Ánalisis vibracional del almidón durante la germinación.....	54
6.	Almidón resistente.....	55
VII.	Conclusiones.....	58
VIII.	Bibliografía.....	61

Índice de cuadros y figuras

Cuadro 1.....	15
Cuadro 2.....	24
Cuadro 3.....	47
Figura 1.....	11
Figura 2.....	11
Figura 3.....	13
Figura 4.....	16
Figura 5.....	17
Figura 6.....	17
Figura 7.....	18
Figura 8.....	19
Figura 9.....	20
Figura 10.....	22
Figura 11.....	25
Figura 12.....	25
Figura 13.....	26

Figura 14.....	27
Figura 15.....	28
Figura 16.....	29
Figura 17.....	39
Figura 18.....	40
Figura 19.....	41
Figura 20.....	43
Figura 21.....	45
Figura 22.....	48
Figura 23.....	50
Figura 24.....	51
Figura 25.....	53
Figura 26.....	54

I. Introducción

Debido a la importancia sociocultural e histórica de los maíces criollos, se busca promover el mejoramiento y conservación *in situ* de estas variedades. Dando difusión al cultivo tradicional y protegiendo las razas nativas mexicanas de ser desplazadas por granos comerciales [CONANP & SEMARNAT \(2016\)](#). Estos maíces poseen características únicas, tal es el caso del maíz azul como fuente de pigmentos (antiocianidinas) y antioxidantes, atractivo en la industria de productos nixtamalizados. El maíz blanco de endospermo duro, el cual presenta una baja absorción de agua y aceite es utilizado para la producción de botanas. El maíz blanco de endospermo semiduro es aprovechado para la producción de tortillas. Mientras que los maíces con alto porcentaje de germen son utilizados en la producción de aceite y los maíces con alto contenido de almidón en la extracción del mismo ([Figueroa Cárdenas et al., 2013](#)). Sin embargo, los carbohidratos, especialmente el almidón (el componente principal del maíz), puede ser hidrolizado a azúcares simples durante el proceso digestivo, lo que aumenta los niveles de glucosa en sangre ([Skendi & Papageorgiou, 2019](#)). Desde esta perspectiva, dependiendo del grado de digestibilidad, los alimentos ricos en almidón se han asociado con cambios en la glucosa en sangre y la liberación de insulina en sujetos sanos y diabéticos ([Jenkins et al., 2002](#)).

No obstante, no todo el almidón es digerido y absorbido por el intestino delgado. Algunos de los gránulos de almidón sobreviven al proceso digestivo y llegan al intestino grueso, donde son fermentados parcial o completamente en ácidos grasos de cadena corta (AGCC). Esta parte del almidón se define como almidón resistente (RS) ([Wang et al., 2021a](#)). Por su parte, el RS ayuda a prevenir eficientemente afecciones como diabetes, hiperglucemia y el cáncer de colon ([Ji et al., 2021](#)). Adicionalmente, según su comportamiento en el tracto gastrointestinal, el almidón puede ser clasificado en almidón de rápida digestión (RDS) y almidón de lenta digestión (SDS). El RDS se digiere y absorbe a un ritmo acelerado dentro de los primeros 20 minutos después de la ingesta. El SDS se digiere lentamente desde los primeros 20 minutos, y hasta 120 minutos después de la ingesta. Si bien el SDR está relacionado con alimentos de alto índice glucémico y por lo tanto afecciones a la salud, el

SDS mantiene niveles estables de glucosa en sangre posprandial y previene la resistencia a la insulina ([Wang et al., 2021a](#)).

El RS ha sido clasificado en 5 categorías, el RS1 refiere al almidón físicamente inaccesible. El RS2 se encuentra naturalmente en el almidón crudo con una estructura cristalina de alta densidad. Los almidones que han sido sometidos a procesos de calentamiento y enfriamiento sufren una modificación en su estructura, disminuyendo su digestibilidad. Este proceso se conoce como retrogradación y el producto resultante se define como RS3. El RS4 refiere a almidones químicamente modificados con mayor resistencia a la digestión. Finalmente, el RS5 se refiere a complejos de almidón-lípidos ([Wang et al., 2023b](#)). Debido a los beneficios que el RS ofrece a la salud, la demanda de almidones resistentes ha aumentado con los años. Desafortunadamente, la manufactura de almidones resistentes implica altos costos de producción. En este tenor, la germinación podría resultar una alternativa de bajo costo para la producción de RS y por lo tanto proveer de un valor a maíces criollos germinados.

La germinación es uno de los procesos más importantes para propagar plantas y mejorar el valor nutricional de las semillas. Este proceso es utilizado en la producción de malta para la industria de destilados, en la industria panadera para aumentar la calidad de harinas y en granos de cereal aumenta los niveles de oligosacáridos, aminoácidos, vitamina y antioxidantes. Además la germinación incrementa componentes bioactivos en la semilla como: fibra soluble, ácido gamma-aminobutírico (GABA), polifenoles, minerales biodisponibles y vitaminas, estos pueden ser aprovechados por el cuerpo humano para protegerse del daño oxidativo ([Ding & Feng, 2019](#); [Liu et al., 2022](#)). En este sentido, desde 1980 el consumo de cereales germinados y productos elaborados con harinas germinadas ha aumentado con el paso de los años, debido a un aumento en la demanda de alimentos ricos en fibra soluble, oligosacáridos y almidón resistente ([Benincasa et al., 2019](#)).

Por otro lado, la germinación ha sido ampliamente estudiada en las primeras etapas del desarrollo de la semilla, hasta que la radícula alcanza el doble de longitud que la semilla, lo que generalmente ocurre dentro de los primeros tres días de la germinación. Este proceso incluye una fase de remojo y germinación, las cuales se utilizan en la industria malteadora

para diversos tipos de granos. Durante la etapa de remojo, la imbibición de agua desencadena un aumento de la liberación de amilasas para hidrolizar las reservas de la semilla y proporcionar energía al embrión (Guzmán-Ortiz *et al.*, 2019). Durante la germinación, todos los componentes de la semilla desempeñan un papel específico. Sin embargo, aún no se comprende completamente la utilización y movilización de los nutrientes de las semillas, especialmente los cambios en el almidón, sus propiedades fisicoquímicas y sus componentes. Desde un punto de vista biológico, el almidón es la reserva energética más importante de las plantas, así como la principal fuente de carbohidratos en la dieta humana. Esquivel-Fajardo *et al.* (2022) describen el almidón como micro o submicro-partícula compuestas de amilosa, amilopectina, grasa, proteínas, sales, iones, agua, pero principalmente nanocristales con estructuras cristalinas ortorrómbicas (almidón tipo A) y/o hexagonales (almidón tipo B) como lo describen Kim *et al.* (2015) y Gong *et al.* (2016). Debido a la complejidad del almidón es importante considerar el rol de cada uno de sus elementos durante la germinación.

Es importante resaltar que no todo el almidón se degradará a glucosa. Las α -amilasas hidrolizan los enlaces glicosídicos α -(1-4), generando oligosacáridos y dextrinas, los cuales forman parte del RS. Recientemente, Hernández-Becerra *et al.* (2020) y Nieves-Hernández *et al.* (2023) reportaron que la estructura cristalina del almidón no se ve afectada por la germinación. Sin embargo, los autores no incluyeron un análisis de digestibilidad de carbohidratos. Adicionalmente, Rojas-Molina *et al.* (2014) relacionaron la fracción cristalina del almidón con el RS tipo 2. Lo anterior sugiere la posibilidad de que exista una fracción del polisacárido que no sea susceptible al ataque enzimático, por lo tanto, al consumirse, esta fracción no será hidrolizada por las enzimas del tracto gastrointestinal y en consecuencia llega al colon para ser fermentada por la microbiota colónica.

En consecuencia, la germinación podría resultar un método efectivo y económico para mejorar el perfil de carbohidratos del maíz, así como para la producción de almidones ricos en RS. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue determinar los cambios en las propiedades fisicoquímicas, el perfil de carbohidratos y la digestibilidad *in vitro* del almidón durante la germinación de maíz criollo.

II. Antecedentes

1. Germinados

Cereales, pseudocereales y leguminosas son una fuente importante de energía, así como de micro y macronutrientes. En especial los cereales constituyen la parte más importante de la dieta humana, siendo los principales cultivos el maíz, el arroz, el trigo, la cebada y el sorgo (Hübner & Arendt, 2013). A partir de 1980 el consumo de cereales y pseudocereales germinados tuvo un alza en popularidad en culturas occidentales debido a una creciente demanda por alimentos ricos en compuestos bioactivos como fibra soluble, oligosacáridos y almidón resistente los cuales resultan de interés debido a su actividad probiótica. De igual manera surgió una tendencia por alimentos elaborados a partir de harinas germinadas como panes, pastas y bebidas. No obstante, debido a la elevada actividad enzimática durante un proceso de germinación sin controlar, las propiedades fisicoquímicas de las harinas se ven afectadas, esto representa un reto para la industrialización de dichos productos (Benincasa *et al.*, 2019).

Los estudios relacionados con germinación principalmente han evaluado el efecto de este proceso sobre un componente en específico como proteínas, ácidos grasos o carbohidratos, debido a que las concentraciones de nutrientes y compuestos bioactivos pueden disminuir o aumentar en función del tiempo de germinación (Marti *et al.*, 2020). En este tenor, la germinación cambia la apariencia de granos y semillas dotándolos de coloraciones atractivas, modificando el sabor y mejorando el perfil nutricional (Hübner & Arendt, 2013).

Con respecto a las proteínas, su concentración no aumenta más allá del 10% durante la germinación. No obstante, debido a que proteínas de almacenamiento como globulinas, prolaminas y glutelinas son hidrolizadas a péptidos y aminoácidos, este proceso mejora la biodisponibilidad de dichos elementos (Nelson *et al.*, 2013; Benincasa *et al.*, 2019; Lemmens *et al.*, 2019). Esto resulta útil en el caso de semillas como el maíz, el cual aporta hasta el 50% de las proteínas de la dieta en zonas rurales mexicanas. Sin embargo, presenta un bajo contenido de aminoácidos esenciales como lisina y triptófano (Melesio-Cuéllar *et al.*, 2008).

Por otro lado, a través de la germinación el catabolismo de lípidos conduce a la generación de azúcares como la sacarosa. De igual manera, se ha observado que este proceso mejora el perfil nutricional al disminuir las concentraciones de ácidos grasos saturados y monosaturados, mientras que incrementan los niveles de ácidos grasos poliinsaturados, así como un cambio en la relación entre omega 3 y 6 (Nelson *et al.*, 2013). El incremento en nutrientes puede deberse a una disminución en el almidón total de la semilla, por lo que la proporción de compuestos bioactivos por grano aumenta (Marti *et al.*, 2020). No obstante, la germinación no solo afecta la concentración de almidón, también puede afectar su digestibilidad.

El almidón puede categorizarse con respecto a su comportamiento gastrointestinal como almidón de rápida digestión, almidón de lenta digestión y almidón resistente. La germinación ha demostrado disminuir la digestibilidad del almidón, así como aumentar los niveles de almidón de lenta digestión (Lemmens *et al.*, 2019). Autores como Nieves-Hernández *et al.* (2023) señalan que durante la germinación el ataque enzimático ocurre de manera selectiva, con preferencia por las zonas amorfas, mientras que la fracción cristalina del biopolímero no se ve afectada. Sin embargo, este comportamiento varía con respecto a cada variedad y especie, por lo que aún no existe un consenso en cómo el proceso de germinación afecta las propiedades digestivas del almidón.

Es importante resaltar que existe controversia con respecto al término “germinados”, el cual es utilizado de manera indistinta para referirse a semillas germinadas, brotes y maltas. No obstante, estos productos varían con respecto al tiempo de germinación, así como las condiciones de producción y la parte destinada para su consumo (Lemmens *et al.*, 2019). Desde un punto de vista fisiológico la germinación se divide en tres fases, se considera que inicia cuando la semilla comienza la absorción de agua y culmina al principio de la tercera fase cuando la radícula ha emergido. Sin embargo, para la producción de “brotes” es necesario continuar con la tercera fase por un mayor periodo de tiempo sin alcanzar el desarrollo de hojas. Para la producción de brotes se toma en cuenta la plántula naciente, así como la semilla. Con respecto al malteo, este se considera una forma especial de germinación en la que condiciones como cantidad de agua, temperatura y luz son

controladas. Los granos malteados son utilizados en pequeñas cantidades (principalmente en la producción de bebidas alcohólicas), sin embargo, estas tienen un gran impacto en cuanto a sabor, color y aroma del producto final (Hübner & Arendt, 2013; Marti *et al.*, 2020; Lemmens *et al.*, 2019)

Este trabajo se centrará en las “semillas germinadas” las cuales no consideran brote ni raíces. Como resultado de la actividad enzimática durante la germinación, una porción de los carbohidratos será hidrolizada en oligosacáridos y azúcares (Marti *et al.*, 2020). En consecuencia, la estructura de los granos se verá afectada disminuyendo su dureza y dotándolos de notas dulces, lo cual facilita su consumo como granos enteros. Las semillas germinadas deshidratadas pueden ser incorporados a la dieta como granos enteros, o en harinas para la formulación de fideos, pasta, pan, bebidas funcionales obtenidas a partir de fermentación láctica o bebidas alcohólicas (Benincasa *et al.*, 2019; Finnie *et al.*, 2019).

Como una ventaja adicional la germinación ayuda a disminuir las concentraciones de compuestos antinutrientes como inhibidores de tripsina y ácido fítico (Marti *et al.*, 2020). Además, este proceso se considera simple y barato al no necesitar de equipo sofisticado, poseer un ciclo de producción corto y ocupar muy poco espacio en invernadero (Benincasa *et al.*, 2019).

2. Maíz

En México el maíz representa la base de la dieta nacional con un consumo anual promedio de 196.4 kg de maíz blanco por persona, principalmente en forma de tortilla. Del total de maíz utilizado en México, el maíz blanco abarca el 86.94% de la producción total y está destinado en su mayoría al consumo humano ([SAGARPA, 2017](#)). Mientras que se importa un 76% del maíz amarillo, destinado a la alimentación de ganado y la industria almidonera ([CONACyT, 2021](#)).

En particular el maíz pertenece a la especie *Zea mays L.*, del género *Zea* perteneciente a la familia *Poaceae* que posee más de 600 géneros, siendo los dos más emparentados con el maíz el *Tripsacum* y *Zea*. Estas especies son plantas perennes, herbáceas y robustas con flores femeninas y masculinas ([Kato et al., 2009](#)). La planta posee un tallo simple y robusto, sin ramificaciones que puede alcanzar los cuatro metros de altura. El maíz se encuentra en forma de mazorca y el grano en particular es una cariopse de forma aplastada ([SAGARPA, 2017](#)).

En términos estrictos los granos de cereales como el maíz, el arroz o el trigo son considerados frutos o “cariopses”. Botánicamente distintos de los propios “aquenos” o semillas provenientes de frutos como el tomate o la sandía. Sin embargo, “cariopses” y “aquenos” pueden ser considerados semillas gracias a que comparten características morfológicas similares. Ambos poseen un eje embrionario o germen, a partir del cual se desarrolla una nueva planta que aprovechará los nutrientes almacenados en el endospermo tales como: carbohidratos (almidón), lípidos, proteínas y sales minerales para su crecimiento en condiciones óptimas ([Nonogaki & Nonogaki, 2017](#)).

3. Maíces criollos

El maíz es parte fundamental de la cultura y dieta mexicana. En términos alimenticios, políticos, económicos y sociales representa el cultivo más importante del país [CONANP & SEMARNAT \(2016\)](#). Se calcula que en 2015 hubo una producción de dos millones de toneladas de variedades nacionales o maíces criollos tan solo en los estados de Oaxaca y Guerrero, sin embargo, a pesar de su importancia estos maíces han sufrido un desplazamiento por variedades comerciales poniendo en riesgo la biodiversidad nacional [CIMMYT \(2019\)](#).

Los maíces criollos se definen como aquellas variedades que han sido cultivadas y mejoradas a lo largo de distintas generaciones, mediante de un proceso de selección por parte de productores. Dando como resultado variedades con identidades únicas que varían conforme la zona geográfica ([Domínguez, 2022](#)). No obstante [Kato *et al.* \(2009\)](#) señalan que la nomenclatura “criollo” resulta incorrecta debido a que el maíz tuvo su origen en nuestro país, por tanto, en México no habría variedades criollas al ser nativas del territorio.

Como herencia del conocimiento de los pueblos indígenas y las familias campesinas, México es reconocido por poseer la mayor diversidad de maíces en el mundo, en la actualidad se tienen registradas 59 razas nativas [CIMMYT \(2019\)](#). Debido a sus atractivas características estos maíces se encuentran en muchos de los platillos tradicionales mexicanos. Además de formar parte del patrimonio cultural mexicano, estas variedades suelen representar el sustento alimenticio de las comunidades rurales mexicanas ([Fernández Suárez *et al.*, 2013](#)).

Como un rasgo característico, las razas nativas suelen presentar pigmentaciones derivadas de la presencia de carotenoides, antocianinas y flavonoides, lo que los convierte en una potencial fuente de antioxidantes, además de proveer de un color atractivo, especialmente para la industria de productos nixtamalizados ([Serna-Saldívar *et al.*, 2013](#)). Sin embargo, debido a factores de infraestructura y desarrollo económico, el rendimiento de estas variedades suele ser inferior al de variedades comerciales que se importan o producen principalmente en el norte del país. No obstante, en las regiones centro y sur de México los

maíces criollos constituyen gran parte de la producción total de maíz, representando un importante factor sociocultural y económico [CIMMYT \(2019\)](#).

Por lo general la calidad de los granos de maíz se establece mediante parámetros como tamaño, color y peso. No obstante, autores como [Figueroa Cárdenas *et al.* \(2013\)](#) y [Serna-Saldívar *et al.* \(2013\)](#) señalan que estos parámetros no son suficientes para determinar la calidad de los maíces y en su lugar recomiendan estudiar la microestructura del almidón, mediante pruebas indirectas más económicas. Por otro lado, [Gaytán-Martínez *et al.* \(2013\)](#) recomiendan la caracterización fisicoquímica de estos maíces con la finalidad de determinar su mejor uso en la industria, aprovechando las características individuales de cada variedad.

4. Almidón

Los granos de cereales como el maíz son altamente nutritivos, poseen ácidos grasos, fibra, proteína y almidón el cual representa entre un 60 y 70% de la composición total del grano. El endospermo almidonoso, por lo tanto, representa la parte mayoritaria de las semillas y su función será el entregar nutrientes durante el desarrollo de una nueva planta (Zhou *et al.*, 2013).

El almidón constituye la principal reserva energética en plantas y se encuentra almacenado en forma de gránulos en: tallos, frutos, semillas, raíces y tubérculos. Posee una estructura compleja a diferentes niveles (Gaytán-Martínez *et al.*, 2006), consiste en polisacáridos parcialmente ordenados en estructuras helicoidales, compuestos por cadenas poliméricas lineales de amilosa unidas por enlaces glucosídicos covalentes α (1-4) y cadenas altamente ramificadas de amilopectina unidas por enlaces α (1-4) y α (1-6) estos últimos responsables de las ramificaciones, en conjunto ambas moléculas forman estructuras supra y submoleculares (Zhu & Xie, 2018).

Esquivel-Fajardo *et al.* (2022) definen el almidón como una micro o submicro partícula con estructuras nanocrystalinas ortorrómbicas y/o hexagonales como las descritas por Rodríguez-García *et al.* (2021) compuestas principalmente por amilosa y amilopectina, además de componentes minoritarios como proteínas, lípidos, sales minerales y agua. Pero más importante, contiene nanocrystales, que constituyen el principal almacenamiento de energía de la semilla, de los cuales se desconoce su función durante el proceso de germinación.

4.1 Amilosa

La amilosa es uno de los componentes mayoritarios del almidón, altamente asociada con las propiedades térmicas y la actividad enzimática (Zhu & Xie, 2018). A pesar de la presencia de ramificaciones α -D (1-6) estas solo representan del 0.3 al 0.5% de los enlaces totales, el resto corresponde a enlaces α (1-4) con la capacidad de formar largas cadenas glucosídicas (Figura 1) (BeMiller, 2019).

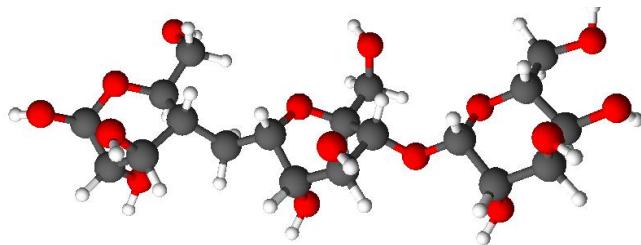


Figura 1. Cadena de amilosa unida por enlaces glucosídicos covalentes α (1-4). (Modelo realizado por Esquivel Fajardo Edgar Alejandro en chemsketch software)

Por tanto, la amilosa es considerada un polisacárido lineal, con un peso molecular promedio de 10^5 dalton (DA) y un grado de polimerización (DP) de entre 600 y hasta 18,000 unidades. En un medio acuoso las moléculas de amilosa pueden interactuar con cadenas adyacentes formando estructuras doble hélice dextrógiiras ([BeMiller, 2019](#)). Las cadenas pueden interactuar entre sí por medio de puentes de hidrógeno, donde los grupos hidroxilo se posicionan en el exterior de la estructura interactuando con el medio, mientras que enlaces puentes de hidrógeno y complejos lipídicos apuntan al eje helicoidal ([Figura 2](#)).

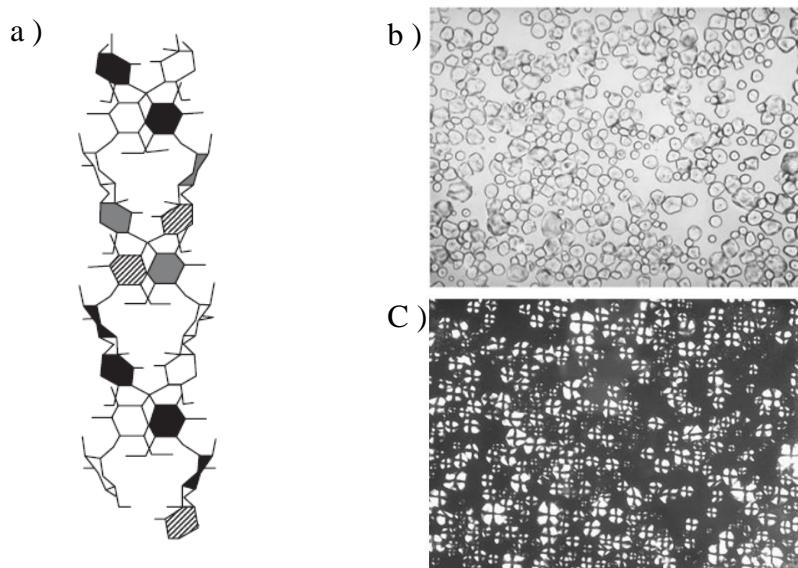


Figura 2. a) Modelo doble hélice del almidón propuesto por ([Eliasson, 2010](#)). b) Gránulos de almidón de maíz waxy y convencional observado por microscopio óptico, c) Los mismos gránulos de almidón observados por luz polarizada ([BeMiller, 2019](#)).

Estas hélices cuentan con un perfil semi-elástico, con la capacidad de ordenarse en acomodos laminares de carácter cristalino (Ai & Jane, 2018; BeMiller, 2019). La conformación de estas estructuras mantiene los arreglos hidrofóbicos de las cadenas de amilosa apartados del medio acuoso, para alcanzar un menor estado de energía con mayor estabilidad. Por lo que se requiere de una energía mayor a 170 °C para disociar el arreglo (Ai & Jane, 2018). El contenido de amilosa típico en maíz se encuentra alrededor del 25%, sin embargo, algunos almidones de maíz conocidos como altos en amilosa o almidones amylo maize se caracterizan por un alto contenido de amilosa entre 50 y 70% (BeMiller, 2019).

La concentración de amilosa en el almidón puede determinarse a partir de la formación del complejo amilosa/iodo (I_3^-) resultando en una coloración azul que puede ser medida por colorimetría. En este, las cadenas de poly(I_3^-) se unen a largos segmentos de hélice por medio de los grupos hidrofóbicos al interior de la estructura generando la característica coloración azul. El complejo suele contener aproximadamente un 19% de iodo. Por otra parte, cuando el iodo interactúa con moléculas de amilopectina genera una coloración purpura debido a una menor longitud de las cadenas (BeMiller, 2019).

4.2 Amilopectina

La biosíntesis de amilopectina requiere de la presencia de amilosa. La enzima ramificadora interactúa con la amilosa cortando de manera aleatoria en enlaces α (1-4), liberando cadenas cortas que agrega mediante ramificaciones α (1-6) a cadenas adyacentes. Más tarde estas ramificaciones aumentan su tamaño por acción de la almidón sintasa (Figura 3) y pueden ser cortadas de nuevo por la enzima ramificadora. Los fosfolípidos inhiben la acción de la enzima ramificadora por lo que teóricamente solo aquellas moléculas de amilosa libres de fosfolípidos pueden participar en la biosíntesis de amilopectina (Heldt & Piechulla, 2011; Zhou *et al.*, 2013).

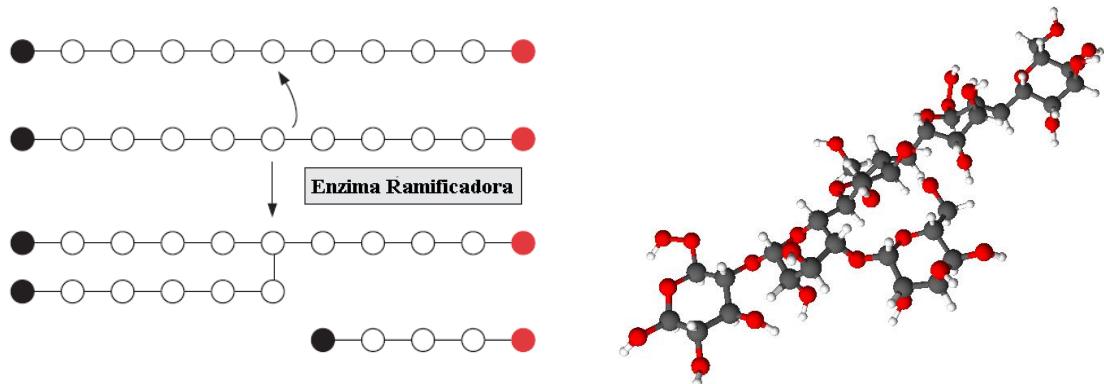


Figura 3. Acción de enzima ramificadora (Heldt & Piechulla, 2011) y molécula de amilopectina (Modelo realizado por Esquivel Fajardo Edgar Alejandro en chemsketch software).

Al igual que la amilosa, la amilopectina influye en las características fisicoquímicas del almidón de manera importante. Las cadenas glucosídicas que conforman esta molécula se clasifican en tres grupos diferentes: A, B y C dependiendo de su posición con respecto a la cadena principal y su grado de polimerización. La cadena principal denominada “C” consta de una larga cadena glucosídica α (1-4) altamente ramificada con un grupo reductor al final. Las ramificaciones unidas por medio de enlaces α (1-6) a la “Cadena C” se denominan “Cadenas A” o “Cadenas B”, estas últimas presentarán un DP mayor con respecto a las “Cadenas A”, sin superar la longitud de la cadena principal. Por otra parte, la estructura de las “Cadenas A” no cuenta con ramificaciones extra, mientras que las “Cadenas B” cuentan con varias ramificaciones α (1-6). Cada una de las “cadenas A”, las cuales se encuentran al exterior de la molécula, son capaces de formar la misma estructura en doble hélice que la amilosa (Zhu & Xie, 2018; BeMiller, 2019). Más tarde durante el proceso de síntesis del almidón la interacción entre distintas moléculas de amilopectina por medio del grupo reductor al final de la cadena principal dará lugar al centro orgánico del gránulo o “Hilum”.

La amilopectina está presente en todos los almidones y normalmente representa tres cuartas partes del contenido total del almidón. Algunos almidones denominados “Waxy” se

componen casi por completo de esta molécula (BeMiller, 2019). La relación entre amilosa y amilopectina varía dependiendo del origen botánico del almidón y las diferentes variedades de una misma especie. Las distintas concentraciones de amilosa y amilopectina, así como su arreglo e interacciones con sales, lípidos y proteínas determinan las características fisicoquímicas del almidón (Gao *et al.*, 2022).

4.3 Componentes minoritarios del almidón

Además de amilosa y amilopectina, el almidón aislado posee componentes minoritarios como sales minerales, lípidos y proteínas que aportan entre un 1.5% y un 2% de la composición total, acompañado por un contenido de humedad que oscila entre el 10% y el 15% (Schmiele *et al.*, 2019). La presencia y concentración de estos componentes varía con la fuente botánica y se ve afectada por la composición del suelo destinado para el cultivo, la temporada y las técnicas de aislamiento del almidón (Zhu & Xie, 2018).

El fósforo es una de las principales sales minerales en el almidón, esto se puede atribuir a la presencia de fosfolípidos, monoésteres y fosfato inorgánico. Por ejemplo, Esquivel-Fajardo *et al.* (2022) reportaron P, K y Na como los principales minerales presentes en el almidón de la semilla de aguacate (*Persea americana Miller, cv. Hass*). En el almidón de sorgo (*Sorghum bicolor (L.) Moench*) Oseguera-Toledo *et al.* (2020) reportan P, K y Mg como los componentes minerales mayoritarios. Por otro lado, Hernández-Becerra *et al.* (2020) reportaron una mayor cantidad de P y Mg en el almidón de maíz *Palomero* con respecto a la variedad *Puma*, además de identificar la presencia de minerales como Zn, Si, Fe y Na en ambas variedades, con distintas proporciones. En el Cuadro 1 se presenta la composición química del almidón de diversas variedades de cereales y semillas.

Cuadro 1. Composición química del almidón de diversas variedades de cereales y semillas

Fuente botánica	Amilosa aparente (%)	Sales minerales	Proteína	Lípidos	Ceniza	Humedad
Sorgo ^a	32.99	P, K, Mg y Si	5.68	2.26	10.03	13.66
Cebada ^b	38.31	P, Na, Ca, Mg y Si	0.81	0.17	0.06	11.70
Aguacate ^c	18	P, K, Na, Ca, Mg y Si	1.45	1.54	0.20	10.46
Maíz ^d	24	Ca, Si, P, K, Mg, S, Fe y Zn	11	7	1.80	15
Maíz ^d	19	Ca, Si, P, K, Mg, S, Fe y Zn	7	4	2.50	15
a) Oseguera-Toledo <i>et al.</i> (2020) , b) Contreras-Jiménez <i>et al.</i> (2019) , c) Esquivel-Fajardo <i>et al.</i> (2022) y d) Hernández-Becerra <i>et al.</i> (2020) .						

Los lípidos en el almidón se encuentran de manera importante como ácidos grasos libres de manera interna, con la capacidad de formar complejos almidón lípidos, así como fosfolípidos, ácidos grasos libres y triglicéridos que generan una barrera protectora, debido a la naturaleza hidrofóbica de los ácidos grasos ([Zhu & Xie, 2018](#); [Schmiele *et al.*, 2019](#)).

Al igual que los lípidos, las proteínas se pueden encontrar dentro del gránulo de almidón formando parte de complejos con el almidón o como una capa externa al mismo. Éstos juegan un rol importante como enzimas en la síntesis y degradación del almidón, de igual manera, pueden afectar las propiedades mecánicas del gránulo ([Tester *et al.*, 2004](#)). Las variedades de maíz con altos contenidos de proteína poseen una mayor dureza, por lo que aislar los almidones resulta en un mayor costo. Esto debido a la dificultad para retirar las proteínas, representando una desventaja para el sector industrial ([Zhu & Xie, 2018](#)).

4.4 Morfología de los gránulos de almidón

Una misma fuente botánica puede contener diferentes morfologías. Las imágenes por microscopía electrónica de barrido (SEM) reportadas por [Contreras-Jiménez *et al.* \(2019\)](#) muestran una amplia variedad de formas y tamaños, predominando los gránulos con morfologías esféricas y ovaladas en el almidón de cebada y guisantes.

El almidón de maíz presenta granos semiesféricos y estructuras poliédricas que varían entre los 5 y 20 μm ([Gaytán-Martínez *et al.*, 2006](#); [Hernández-Becerra *et al.*, 2020](#)). Los gránulos de almidón forman supraestructuras ([Figura 4](#)) que dependen de las características individuales de cada gránulo y la proporción en la que se encuentren. La proporción y características del granulo varían con la variedad del grano.

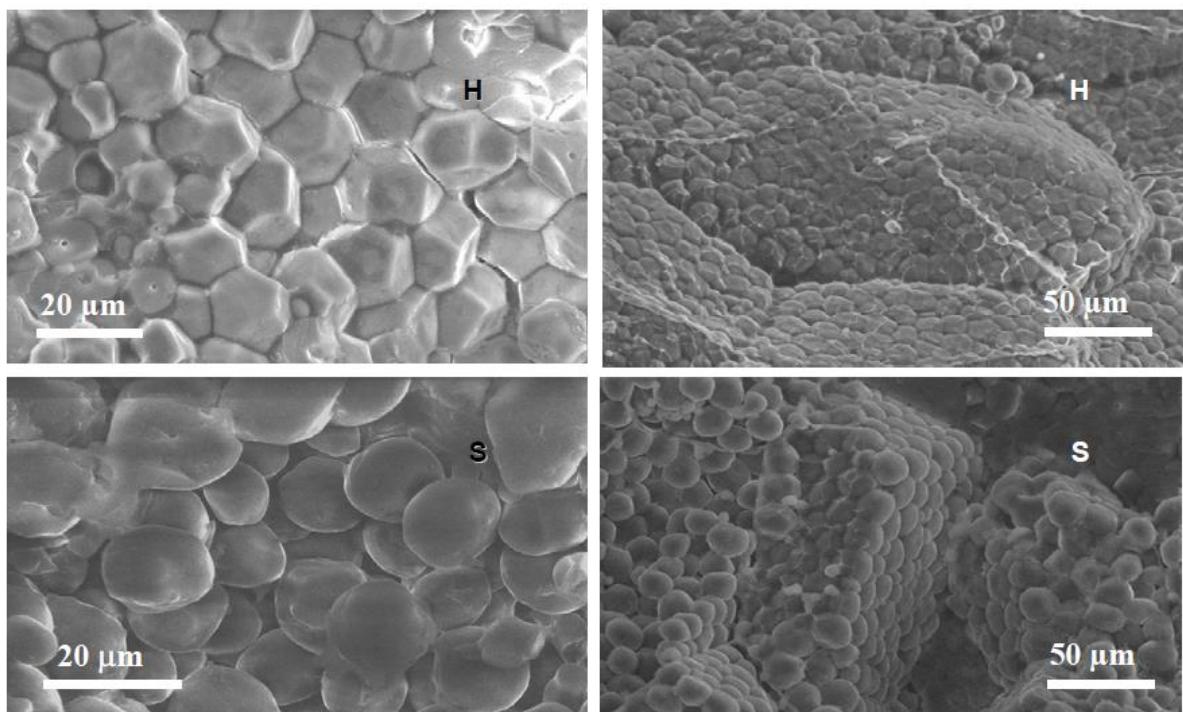


Figura 4. Cortes longitudinales de grano de maíz fracturado. Microestructura de almidón. Maíz duro (H) y suave (S) ([Gaytán-Martínez *et al.*, 2006](#)).

Como se mencionó anteriormente, el centro orgánico del gránulo se denomina “Hilum”, de donde radian cadenas de amilosa/amilopectina ([Figura 5](#)), que interactúan y compactan en

una estructura ordenada semi-cristalina que continúa creciendo en forma de laminillas radiales a manera de capas (BeMiller, 2019).

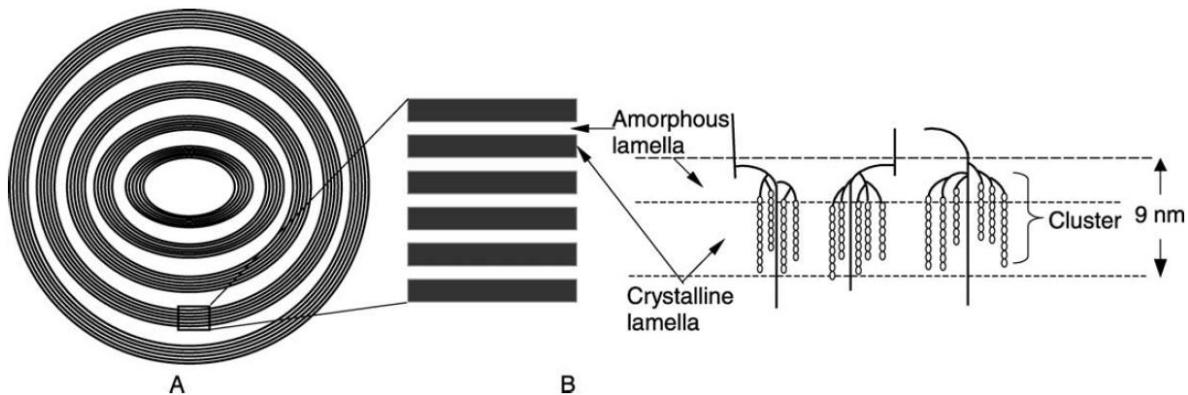


Figura 5. Diagrama estructura laminar en el gránulo de almidón. A) Laminillas cristalinas separadas por anillos amorfos que se expanden. B) Representación zonas amorfas y cristalina (Tester *et al.*, 2004).

Las moléculas de amilopectina tienden a agruparse en laminillas: los grupos reductores al final de las cadenas interactúan entre ellos formando arreglos paralelos de estructuras doble hélice altamente ordenadas (BeMiller, 2019). Es posible observar estas estructuras bajo microscopio electrónico de barrido (SEM), en granos dañados mecánicamente con el centro expuesto o en almidones que han sufrido ataques enzimáticos como en la germinación (Figura 6).

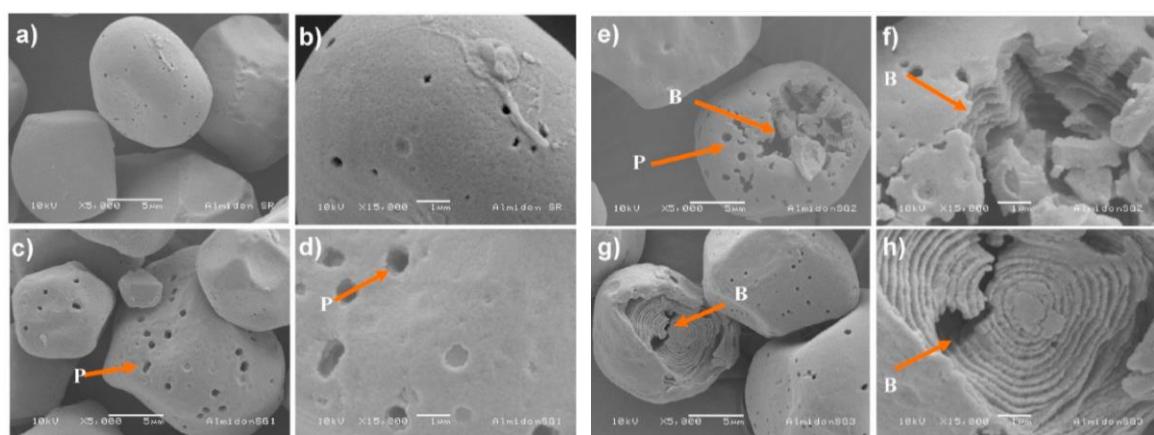


Figura 6. Micrografías de almidón de sorgo durante el proceso de malteo; Remojo a) y b), día 1 c) y d), día 2 e) y f), y día 3 g) y h). P: Poros; B: gránulos rotos (Oseguera-Toledo *et al.*, 2020; Contreras-Jiménez *et al.*, 2019).

4.5 Estructura cristalina y arreglo doble hélice del almidón

Al analizar el almidón mediante Rayos-X se pueden observar patrones de difracción correspondientes a regiones amorfas y cristalinas (Figura 7), estas se relacionan con diferentes acomodos de amilosa y amilopectina (Gaytán-Martínez *et al.*, 2006). Los rayos-x son una herramienta útil para estudiar la microestructura del almidón, de la cual dependen las características fisicoquímicas y funcionales del almidón.

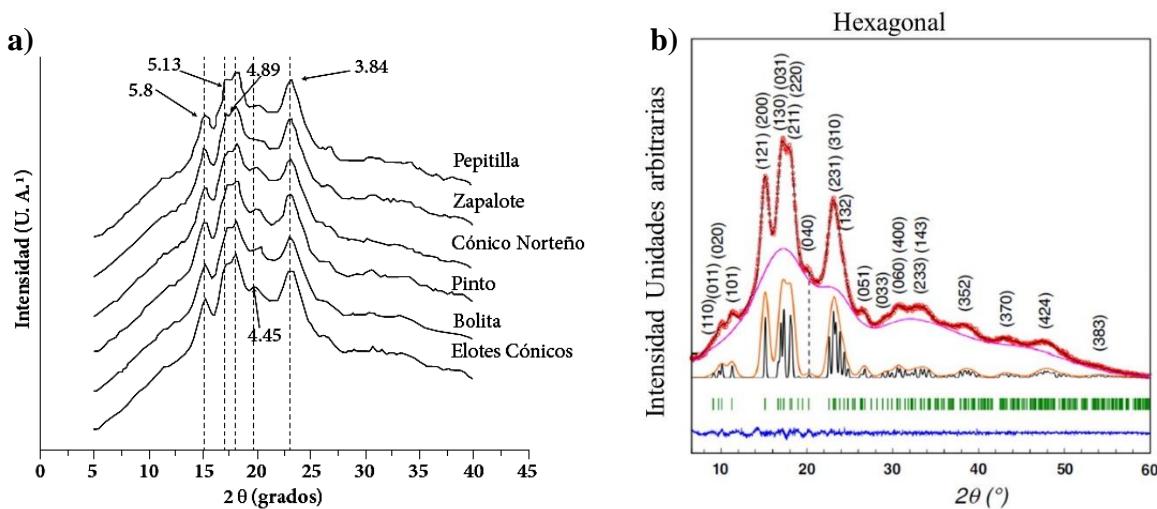
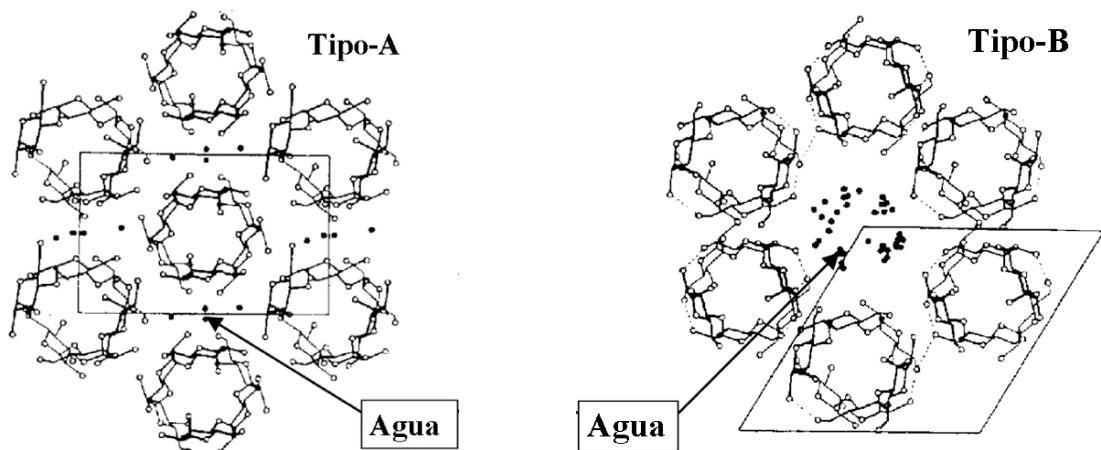


Figura 7. a) Patrón de difracción de rayos-X de maíces nativos (Gaytán-Martínez *et al.*, 2006). b) Patrón característico de estructura hexagonal en almidón (Rodríguez-García *et al.*, 2021).

Como se mencionó en el capítulo anterior, durante la formación de los gránulos de almidón, sus moléculas principales se compactan dando lugar a laminillas separadas por zonas amorfas. La formación de dichas estructuras es el resultado de un arreglo altamente ordenado de moléculas de amilosa y amilopectina durante la síntesis enzimática (BeMiller, 2019). Los alpha-glucanos del almidón (en su mayoría cadenas de amilopectina) forman estructuras doble hélice que se compactan, promoviendo la formación de arreglos ordenados (Tester *et al.*, 2004). Al formar enlaces el átomo de hidrógeno provee de un carácter especial al enlace con un elemento distinto. La energía de ionización del hidrógeno es de 13.59 eV, mucho mayor que la energía de otros elementos como los de la columna I de la tabla periódica (Morrison, 2021).

Los distintos arreglos de amilosa y amilopectina dan lugar a estructuras geométricas específicas las cuales pueden ser identificadas de acuerdo con su posición en el espacio. La posición de cada molécula en una red cristalina se define como punto de red. La celda unitaria es el arreglo básico, que cuando se repite en tres dimensiones puede crear la red de un cristal. Si tomamos en cuenta el tipo de estructura, podemos identificar 7 grupos: triclínico, monoclínico, ortorrómbico, tetragonal, trigonal, hexagonal y cubica ([Crowley, 2020](#)). En el caso del almidón es posible identificar dos tipos de estructuras cristalinas.

Se ha propuesto que el almidón presenta estructuras cristalinas tipo-A, tipo-B y tipo-C en un intento por agrupar los distintos tipos de almidón. Se dice que el almidón tipo-A es característico de granos de cereales como el maíz, el tipo-B se relaciona con almidones provenientes de raíces y tubérculos y el almidón tipo-C con frutas. No obstante, esta relación no siempre se cumple. Por otro lado, desde un punto de vista cristalográfico el almidón tipo-A realmente corresponde a nanocristales con un arreglo ortogonal, mientras que el tipo-B corresponde a un arreglo nanocristalino hexagonal ([Figura 8](#)). El almidón tipo-C entonces, consta de la combinación de ambas estructuras ortogonal y hexagonal en una misma fuente botánica, sin conformar realmente una nueva estructura cristalina ([Rodriguez-Garcia *et al.*, 2021](#)).



[Figura 8.](#) Arreglo ortogonal y hexagonal ([Tester *et al.*, 2004](#)).

5. Germinación

De acuerdo con [Joshi \(2018\)](#), existen dos tipos de germinación; la “epigea” característica del frijol y considerada la más primitiva, en ésta los “cotiledones” brotan de la tierra debido al crecimiento del “hipocótilo” y suministran nutrientes a lo largo del crecimiento. La germinación “hipogea” por otro lado, es característica de cereales como el maíz. En ésta los “cotiledones” permanecen enterrados, la plúmula emerge y el hipocótilo se alarga para el posterior desarrollo de hojas.

Los componentes de las semillas en cereales reciben su nombre por su origen embriogénico y estructura ([Figura 9](#)). Estos componentes derivan en tres tejidos principales: embrión, endospermo y aleurona. Estructuras como la testa y el pericarpio protegen el embrión y los tejidos de reserva del medio ambiente, mientras que el endospermo rico en almidón constituye la mayor parte de la semilla y provee de los nutrientes necesarios para el desarrollo del embrión, comprendiendo eje embrionario y escutelo ([Zhou et al., 2013](#)).

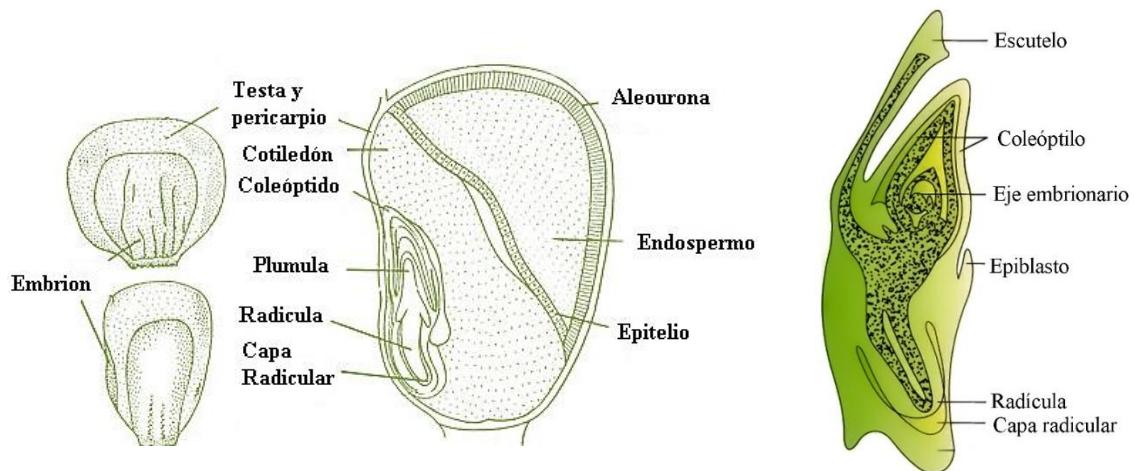


Figura 9. Estructura de la semilla maíz ([Gupta, 2016](#)) y escutelo ([BYJU, 2022](#)).

La germinación se define entonces, como un proceso complejo de cambios fisiológicos y bioquímicos en la semilla, que incluye cambios en la estructura subcelular (aleurona y pericarpio), la activación y formación de un sistema enzimático, la reactivación de la respiración celular, además de la hidrólisis, cambios y movilización de los elementos de almacenamiento del grano ([Liu et al., 2022](#)).

Durante la germinación el germen crece y se desarrolla transformándose en plúmula y radícula formando así una nueva planta (Joshi, 2018). Hormonas incluyendo ácido abscísico (ABA), etileno, giberelinas (GAs), auxinas (IAA) y brasinoesteroides participan de manera importante en el desarrollo fisiológico de las semillas (Miransari & Smith, 2014).

5.1 Dormancia

Después de la gestación en la planta madre las semillas son inducidas a un estado de inactivación o dormancia, por medio del cual la semilla alcanza la maduración. Siendo la inactivación fisiológica la más común y característica del maíz. Dicho proceso deshidrata la semilla, alterando sus características estructurales. (Tuan *et al.*, 2019). Es por eso que a este fenómeno se le conoce como “secado de maduración” y aumenta la resistencia de los granos a bajas concentraciones de humedad alargando su vida útil hasta encontrar condiciones óptimas para su desarrollo (Nonogaki & Nonogaki, 2017). A partir de este punto la semilla solo podrá germinar cuando las condiciones endógenas y medioambientales sean favorables (Matilla, 2008).

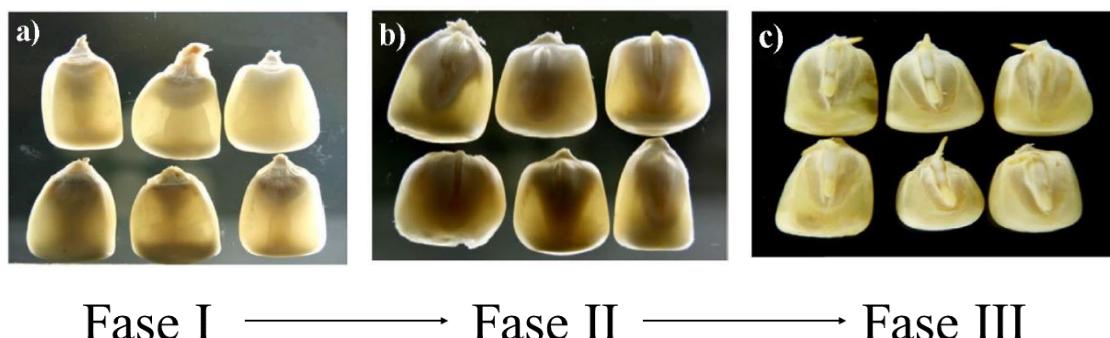
La dormancia entonces se define como la inhabilidad de semillas fértiles e intactas de germinar en ambientes favorables. Este proceso está fuertemente relacionado con un exceso de la fitohormona de ácido abscísico (ABA), si esta se expresa bajo condiciones convencionales de maduración se le denomina dormancia primaria. No obstante, cuando semillas fértiles no durmientes se encuentran con condiciones ambientales desfavorables pueden entrar en un segundo estado de dormancia obligando las semillas a madurar de manera prematura para asegurar la supervivencia hasta encontrar condiciones climatológicas óptimas (Tuan *et al.*, 2019).

5.2 Cambios fisiológicos y estructurales durante la germinación

La germinación comienza con la absorción de agua por el germen de semillas maduras. El agua es esencial para la germinación, sin la rehidratación de la semilla las actividades celulares y metabólicas necesarias no ocurrirán (Nonogaki & Nonogaki, 2017).

Cuando la germinación inicia las semillas producen diferentes enzimas que hidrolizan las reservas del grano en moléculas simples y fáciles de utilizar. Se ha reportado que durante la germinación temprana la disponibilidad de minerales, lípidos, proteínas y vitaminas, así como la concentración de enzimas aumenta (Joshi, 2018). Estos procesos enzimáticos son regulados por diferentes hormonas como las giberelinas (GAs), las cuales son capaces de activar semillas en estado de dormancia por la movilización de enzimas catabólicas y la inhibición de vías metabólicas de ABA. Al afectar el balance hormonal en las semillas parámetros medioambientales como salinidad, acides, temperatura y luz pueden afectar la germinación (Miransari & Smith, 2014).

El proceso de absorción de agua se divide en tres diferentes fases ilustradas en la Figura 10. La rápida absorción inicial de agua (Fase I), el estado de latencia donde la tasa de absorción disminuye drásticamente (Fase II) y por último la etapa de crecimiento y desarrollo (Fase III) (Liu *et al.*, 2022). La fase I se caracteriza por una rápida absorción de agua donde la semilla alcanza un 40% de humedad. La alta tasa de absorción altera la permeabilidad diferencial de tejidos como testa, pericarpio y aureola liberando metabolitos de bajo peso molecular (Matilla, 2008; Tuan *et al.*, 2019). En este primer paso la semilla retoma la reorganización de organelos celulares, incluyendo mitocondrias vitales en el proceso de respiración (Nonogaki & Nonogaki, 2017).



- Rápida absorción de agua
- Síntesis de mRNA
- Alta tasa de respiración
- Baja absorción de agua
- Deterioro de estructuras externas del grano
- Aumenta tasa de división celular
- Alta absorción de agua
- Movilización de sustancias de almacenamiento
- Alta tasa de respiración

Figura 10. Cambios morfológicos del maíz durante malteo (Hernández-Becerra *et al.*, 2020) y fases de germinación (Matilla, 2008; Tuan *et al.*, 2019; Miransari & Smith, 2014).

Varios procesos biológicos toman lugar en este punto incluyendo la síntesis de proteínas correspondientes al RNA mensajero (mRNA), reanudando vías metabólicas como la glucolítica, oxidativa y la vía de pentosas fosfato. Esto conlleva a un aumento en la tasa de consumo de oxígeno y producción de dióxido de carbono (Tuan *et al.*, 2019).

Cuando la primera fase termina, la tasa de absorción de agua disminuye y se mantiene estable, dando lugar a la fase II. Durante la fase I y II la radícula comienza a emitir presión al elongarse, cuando la presión es suficiente para penetrar pericarpo y testa, la radicular emerge y la germinación se ha completado. Durante la fase II testa y pericarpo ofrecen resistencia mecánica al brote de la radícula previniendo la germinación, por lo que procesos enzimáticos degradan estos tejidos facilitando el brote de plúmula y radícula (Nonogaki & Nonogaki, 2017). Durante esta fase la reparación de mitocondrias y ADN continua, así como la síntesis de proteínas (Tuan *et al.*, 2019).

La fuerza ejercida por la expansión del germen (crecimiento de radícula y plúmula) se denomina “Potencial de crecimiento embrionario”, probablemente éste fenómeno se debe al alargamiento celular, mientras que la tasa de división celular aumenta tan pronto como la radícula emerge. Cuando la radícula emerge a través del pericarpo la germinación está completa y marca el fin de la segunda fase (Nonogaki & Nonogaki, 2017).

En este punto, el germen requiere de nutrientes y energía hasta alcanzar un estado de autosuficiencia o “autótrofo”, mismo que ocurre a través de la fotosíntesis (Tuan *et al.*, 2019). Por último, la fase III se caracteriza por la movilización de nutrientes almacenados en los tejidos de almacenamiento o endospermo en el caso de cereales como el maíz, además de una segunda fase de absorción de agua detonada por el crecimiento de la radícula y el desarrollo de hojas (Nonogaki & Nonogaki, 2017).

6. Almidón durante la germinación

Durante la germinación las semillas no pueden tomar energía del exterior, por lo que recurren a la degradación de tejidos de almacenamiento obteniendo energía y nutrientes para su desarrollo (Liu *et al.*, 2022). Gracias a la actividad de enzimas y vías metabólicas específicas durante la germinación el almidón, proteínas, lípidos y otros nutrientes se hidrolizan en metabolitos simples para ser aprovechados por el embrión hasta alcanzar un estado autótrofo (Miransari & Smith, 2014).

A partir de la Fase III de la germinación el embrión produce una mayor cantidad de GAs que migran hasta la aleuronona e inducen la producción de varias enzimas (Cuadro 2). Estas enzimas se liberan en el endospermo donde hidrolizan las reservas de la semilla para entregar azúcares y aminoácidos al embrión en desarrollo. Las reacciones dependientes de fosforilasas predominan en tejidos que no cumplen funciones de almacenamiento, mientras que en tejidos de almacenamiento las hidrolasas se encuentran en mayor concentración. En este tenor la α -amilasa y β -amilasa constituyen aproximadamente el 70% de las proteínas aleuronares. (Srivastava, 2002; Pallardy, 2008).

Cuadro 2. Enzimas involucradas en la hidrólisis del almidón.

<i>Enzima</i>	<i>Tipo</i>	<i>Sustrato</i>
α -Amilasa	Endo-Hidrolasa: Corta en enlaces α (1, 4).	Largas dextrinas (Se inhibe su actividad cerca de enlaces de ramificación α (1, 6)).
β -Amilasa	Exo-Hidrolasa: Libera maltosas desde el extremo no reductor.	Largas dextrinas (Limita su actividad a enlaces α (1, 6)).
α -Glucosidasa	Exo-Hidrolasa: Libera glucosas desde el extremo no reductor.	Maltosa y pequeños oligosacáridos (Su actividad se limita al alcanzar enlaces de ramificación α (1, 6)).
<i>Dextrinasa</i>	Hidroliza ramificaciones α (1, 6).	Dextrinas límite.
<i>Almidón fosforilasa</i>	Exo-Hidrolasa: En la presencia de fosfato inorgánico, libera glucosa-1P del extremo no reductor.	Degrada amilosa, amilopectina y pequeñas dextrinas (Se inhibe su actividad cerca de enlaces de ramificación α (1, 6)).

Ashford & Gubler (1984).

La hidrólisis del almidón ocurre principalmente por medio de dos grupos de reacciones enzimáticas; las amilasas cortan en enlaces α (1, 4), mientras que las fosforilasas actúan sobre los enlaces α (1, 4) fosforilando y liberando glucosa-1P (Figura 11). Se necesita de ambos grupos para la hidrólisis del almidón (Matilla, 2008; Heldt & Piechulla, 2011).

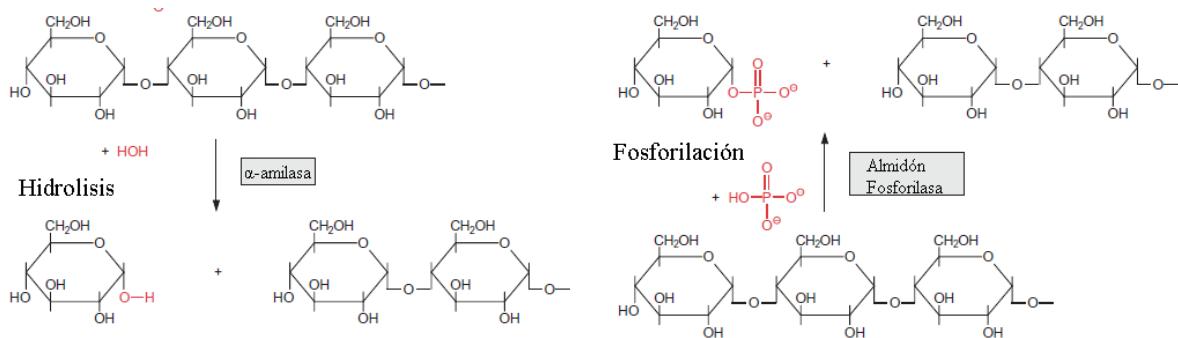


Figura 11. La hidrólisis enzimática del almidón se lleva a cabo mediante la acción de amilasas o fosforilasas (Heldt & Piechulla, 2011).

La β -amilasa en específico juega un papel importante al liberar maltosas cortando desde el extremo de la cadena. Esta enzima se encuentra presente en las paredes celulares de los órganos en crecimiento. Cataliza la hidrólisis y remoción de unidades sucesivas de β -maltosa del extremo no reductor de las cadenas de amilosa y amilopectina (Figura 12). Posteriormente, la conversión final de maltosa a glucosa es catalizada por la maltasa (ec. 1). (Pallady, 2008; Tofiño, 2006).

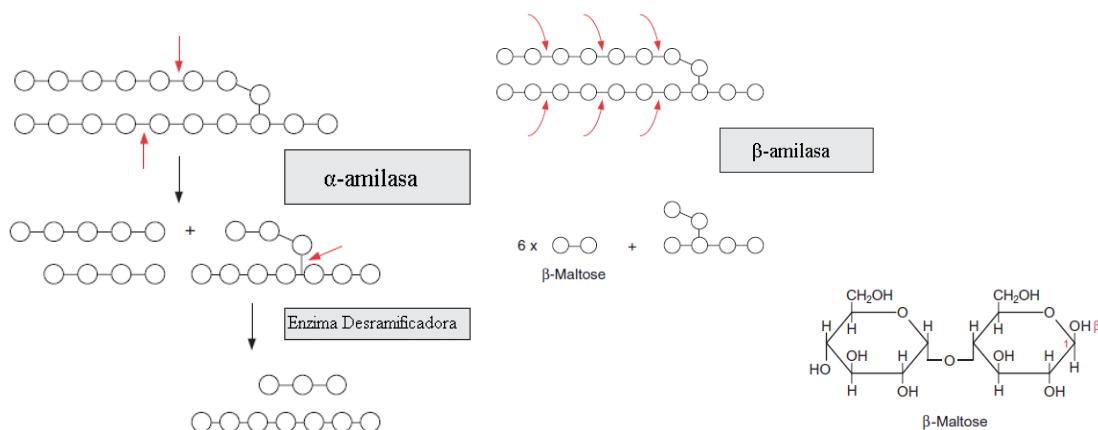


Figura 12. α -Amilasa y β -amilasa (Heldt & Piechulla, 2011).

Almidón → Dextrinas → Maltosa → Glucosa (ec. 1)

No obstante, a pesar de la actividad enzimática la hidrolisis del almidón ocurre solo de manera parcial. Al analizar las micrografías reportadas por [Nieves-Hernández *et al.* \(2023\)](#) es posible observar un ataque enzimático superficial no uniforme del almidón durante los primeros días de germinación ([Figura 13](#)), por lo que la morfología de los gránulos no se ve afectada de manera significativa. Posteriormente, conforme el proceso de germinación avanza la actividad enzimática conlleva a la formación de microporos con un tamaño aproximado de 0.5 a 2 μm . A medida que los poros continúan creciendo y conectándose, la morfología de los gránulos cambia de manera drástica, exponiendo la característica estructura en forma de cebolla del almidón. Los autores señalan que para llegar a este punto en la degradación del almidón es necesaria la acción en conjunto de α y β -amilasa.

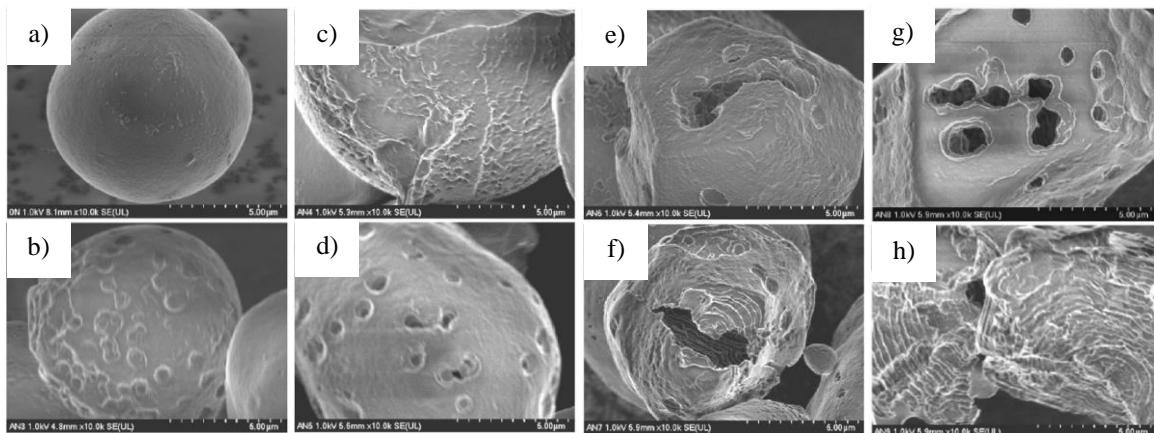


Figura 13. Micrografías de almidón de maíz aislado durante el proceso de germinación; a) Nativo, b) día 3, c) día 4, d) día 5, e) día 6, f) día 7, g) día 8 y h) día 9 ([Nieves-Hernández *et al.*, 2023](#)).

Como resultado de la hidrolisis parcial del almidón distintos azúcares que la semilla utilizará como fuente de energía son liberados en el endospermo, para posteriormente migrar al germen en desarrollo. Debido a esto, en granos de maíz germinados el contenido total de almidón decrece al tiempo que el contenido de azúcares reductores y solubles aumenta de manera gradual ([Figura 14](#)) ([Ma *et al.*, 2020](#); [Hernández-Becerra *et al.*, 2020](#)).

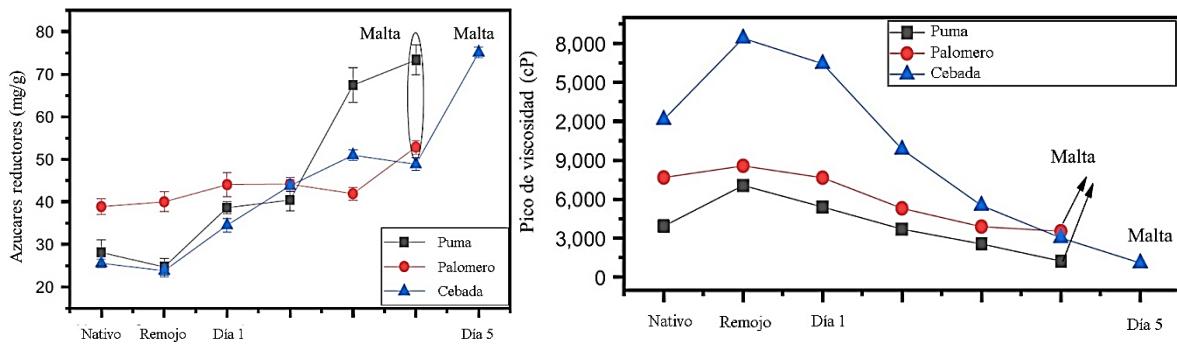


Figura 14. Azúcares reductores y pico de viscosidad en maíz puma y palomero durante proceso de malteo (Hernández-Becerra *et al.*, 2020).

Es importante resaltar que no todo el almidón será degradado a glucosas. La α -amilasa hidroliza los enlaces glucosídicos α -(1-4), generando oligosacáridos y dextrinas. Los oligosacáridos y dextrinas forman parte del almidón resistente y ayudan a prevenir de manera eficiente condiciones como; diabetes, hiperglucemia y cáncer de colon (Ji *et al.*, 2021). Durante el proceso de germinación el perfil de carbohidratos podría mejorar debido a un aumento de estos compuestos. Sin embargo, la influencia de la germinación sobre el perfil de carbohidratos en maíz aún no es del todo clara.

Kim *et al.* (2020) encontraron que el perfil de carbohidratos varía de manera significativa durante el proceso de germinación del arroz. Las concentraciones de maltosa, celobiosa, glucosa, sorbitol y ácido glucónico disminuyeron entre un once y dos por ciento. Mientras que Martincabrejas *et al.* (2008) estudiaron la influencia de la germinación sobre los carbohidratos solubles y fracciones de fibra dietética en leguminosas no convencionales. Reportaron que el contenido de fibra soluble e insoluble varía ampliamente entre especies. En leguminosas como el Caupí la cantidad de fibra insoluble aumenta casi en un 10%, mientras que en la soja disminuye en un 21%, además se reportó que las concentraciones de glucosa suelen permanecer constantes entre especies, mientras que las concentraciones de sacarosa, maltosa y manotriosa incrementaron de manera significativa en las variedades estudiadas.

A la par, el aumento en el contenido de azúcares ha sido relacionado con la alteración de las propiedades reológicas de harinas y almidones provenientes de granos germinados. Durante la germinación de variedades de maíz *Puma* y *Palomero*, así como maíz nativo Hernández-Becerra *et al.* (2020) y Nieves-Hernández *et al.* (2023) reportaron una disminución en el perfil de viscosidad de los almidones aislados (Figura 15a). Este comportamiento concuerda con lo reportado por Oseguera-Toledo *et al.* (2020) y Contreras-Jiménez *et al.* (2019) en almidones germinados de cebada y sorgo respectivamente. Los autores relacionaron este comportamiento con la hidrólisis de las cadenas de amilosa y amilopectina.

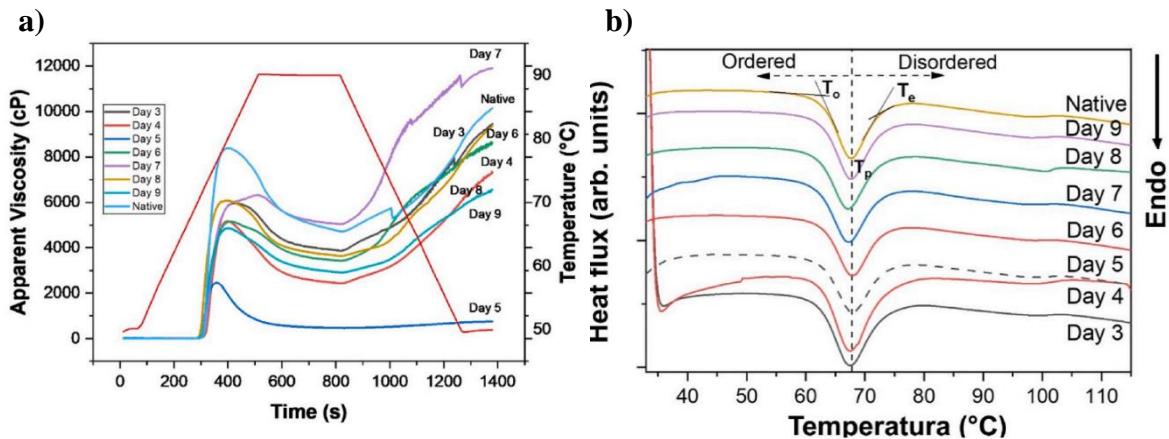


Figura 15. a) Viscosidad aparente y b) transiciones térmicas del almidón durante la germinación (Nieves-Hernández *et al.*, 2023).

No obstante, los resultados reportados por Nieves-Hernández *et al.* (2023) (Figura 15b) muestran que las temperaturas de gelatinización o cambios de fase no presentan cambios significativos durante el proceso de germinación. Esquivel-Fajardo *et al.* (2022) asocia esta transición térmica a la solvatación de las estructuras ortorrómbicas y/o hexagonales.

De igual manera, y a pesar de la hidrólisis parcial de los gránulos de almidón los patrones de difracción reportados por Nieves-Hernández *et al.* (2023), Hernández-Becerra *et al.* (2020), y Ma *et al.* (2020) (Figura 16.) muestran que la estructura nanocrystalina no se ve

afectada por la actividad enzimática. Lo anterior sugiere que la hidrólisis del almidón ocurre de manera selectiva, con preferencia por las partes amorfas. Es posible que exista una fracción del polisacárido que no sea susceptible al ataque enzimático, por lo tanto, al consumirse, esta fracción no sea hidrolizada por las enzimas del tracto gastrointestinal y en consecuencia llegue al colon para ser fermentado por la microbiota colónica. Dicha fracción se conoce como almidón resistente.

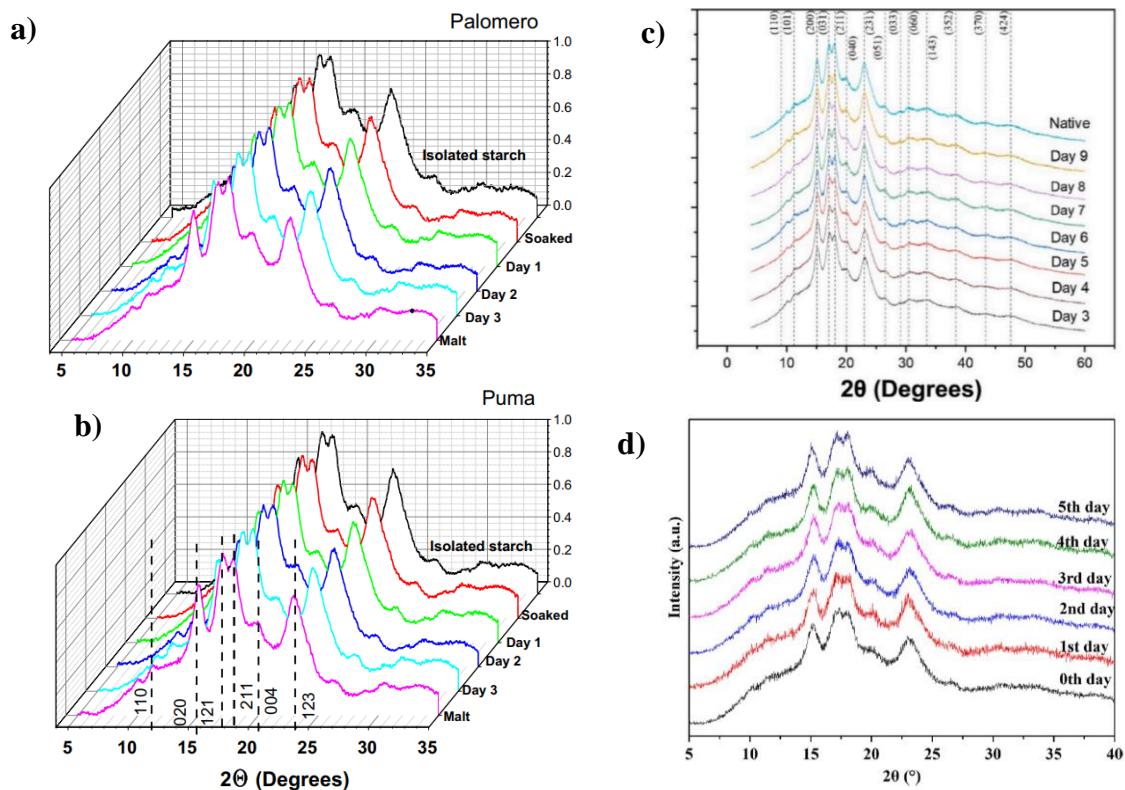


Figura 16. Diffractogramas de almidones de maíz: a) Palomero, b) Puma ([Hernández-Becerra et al., 2020](#)), c) *Zea mays L.* ([Nieves-Hernández et al., 2023](#)) y d) Jike 728 (Variedad de maíz china) ([Ma et al., 2020](#)) durante la germinación.

7. Almidón resistente

La fibra dietaria se define como la fracción de plantas o carbohidratos análogos que resiste al proceso de digestión y absorción en el intestino delgado, que después sufren una fermentación parcial o completa en el intestino grueso. En 1985 Englyst llevó a cabo un análisis cuantitativo de fibra dietaria y encontró que la fibra insoluble contenía remanentes de almidón, revelando así que el almidón no se digiere por completo en el intestino delgado y propone el término almidón resistente ([Skendi & Papageorgiou, 2019](#); [Wang *et al.*, 2021a](#)).

Adicionalmente, el almidón puede ser clasificado por medio de su comportamiento en el tracto digestivo como: almidón de rápida absorción, de lenta absorción y almidón resistente a la digestión. Esta resistencia a la digestión depende de la relación amilosa-amilopectina, largo de las cadenas de amilopectina, grado de cristalinidad y presencia de complejos almidón ([Öztürk *et al.*, 2019](#)).

El almidón de rápida digestión (RDS) refiere a aquella porción de almidón hidrolizado por enzimas y absorbido al torrente sanguíneo en los primeros 20 minutos de digestión. Al hidrolizarse en D-glucosa bajo la acción de α -amilasa salival, pepsina, α -amilasa pancreática y glucosidasa, la rápida digestión del almidón provoca picos de azúcar e insulina en sangre. El almidón de lenta digestión (SDS) refiere a aquella porción de almidón que se digiere después de los primeros 20 min y hasta los 120 min después de la ingesta, liberando energía de manera moderada, esto permite un nivel de azúcar estable en sangre, además de prevenir resistencia a insulina. Almidón resistente (RS) se define como aquella porción de almidón que no se degrada durante el trayecto en estomago e intestino delgado, para posteriormente ser fermentado por la microbiota en intestino grueso ([Bojarczuk *et al.*, 2022](#); [Wang *et al.*, 2021a](#); [BeMiller, 2019](#)).

El almidón resistente se divide en 5 categorías dependiendo del mecanismo utilizado para evitar su hidrolisis. Almidón resistente Tipo 1 (RS1) refiere a aquel almidón físicamente inaccesible. El almidón resistente Tipo 2 (RS2) refiere a almidón crudo (Almidón no gelatinizado), el almidón resistente Tipo 3 (RS3) corresponde a almidones que ha sido

sometidos a procesos de calentamiento y enfriamiento, modificando su estructura y dificultando su digestión, este proceso es conocido como retrogradación. El almidón resistente Tipo 4 (RS4) refiere al almidón químicamente modificado con mayor resistencia a la digestión. Por último, el almidón resistente Tipo 5 (RS5) refiere complejos de almidón y lípidos que resultan resistentes a α -amilasa ([BeMiller, 2019](#)).

7.1 Almidón resistente durante la germinación

Como resultado de la degradación del almidón, así como la liberación de oligosacáridos y azúcares simples, podría esperarse un aumento en la digestibilidad del almidón, al igual que un mayor índice glucémico al consumir granos germinados. Sin embargo, se ha reportado que los niveles de RDS y SDS disminuyen en pan elaborado a partir harinas de trigo germinadas ([Marti et al., 2020](#)).

No obstante, como se mencionó previamente [Nieves-Hernández et al. \(2023\)](#), [Hernández-Becerra et al. \(2020\)](#), y [Ma et al. \(2020\)](#) no estudiaron los cambios en el perfil cristalino del almidón. Adicionalmente [Nieves-Hernández et al. \(2023\)](#) reportaron que la temperatura de gelatinización del almidón (la cual se ha relacionado con la solvatación de la fracción cristalina) no se ve afectada con respecto al tiempo de germinación. Esto sugiere que la fracción cristalina del almidón no se ve afectada por el proceso de germinación y podría, por lo tanto, fungir como almidón resistente.

III. Justificación

La germinación resulta un método efectivo para aumentar los niveles nutricionales en granos, ya que se incrementan los niveles de aminoácidos y ácidos grasos esenciales. Sin embargo, los efectos de este proceso sobre el perfil de carbohidratos no son del todo claros, en específico la cantidad de monosacáridos, disacáridos, oligosacáridos, almidón de rápida y lenta absorción, así como almidón resistente. En este sentido, este trabajo busca estudiar el efecto de la germinación sobre las propiedades fisicoquímicas del almidón, los cambios en el perfil de carbohidratos y el contenido de almidón resistente.

Se espera obtener almidones que puedan ser aprovechados por la industria como fuente de almidón de lenta digestión y almidón resistente. Con la finalidad de ofrecer alternativas que apuesten por la biodiversidad de las especies nacionales, al promover su uso y comercialización, apoyando a las comunidades productoras y comerciantes de maíz mexicanas.

IV. Objetivos

Objetivo general

Determinar los cambios en el perfil de carbohidratos, las propiedades fisicoquímicas y la digestión *in vitro* del almidón durante la germinación de maíz criollo.

Objetivos específicos

1. Determinar el contenido de carbohidratos totales, así como el cambio en el perfil de carbohidratos durante el proceso de germinación de maíz criollo.
2. Determinar el contenido amilosa, así como almidón de lenta, media y resistente a la digestión del maíz criollo germinado.
3. Identificar cambios estructurales, transiciones térmicas, así como el perfil de viscosidad en el almidón aislado de los maíces criollos germinados.
4. Estudiar los cambios estructurales de los nanocristales ortorrómbicos en el almidón en función del tiempo de germinación.

V. Materiales y Métodos

5.1. Materiales

Se utilizó maíz (*Zea Mays L.*) variedad negra nativa cosechado en 2022 en la comunidad de Pedro Escobedo, Querétaro, México. Los granos de maíz se limpiaron manualmente para eliminar impurezas y granos dañados. Posteriormente los granos limpios se almacenaron en bolsas al vacío hasta su uso.

5.2. Germinación

La germinación se llevó a cabo utilizando el método propuesto por [Contreras-Jiménez et al. \(2019\)](#) y [Hernández-Becerra et al. \(2020\)](#) con algunas modificaciones. Brevemente, los granos de maíz se lavaron y sometieron a remojo durante 2 días (hasta alcanzar un 40% de humedad), en recipientes de acero inoxidable a temperatura ambiente (21°C). Durante este periodo los granos se extraen por 30 min cada 8 h para facilitar su aireación.

Las semillas fueron germinadas en condiciones de oscuridad, y a temperatura ambiente (21°C) durante 9 días. Cada 24 h los granos fueron separaron en pericarpio, endospermo, germen y raíces, secando a 50 °C durante 12 h. Pericarpio, germen y raíces fueron almacenados en bolsas plásticas para su posterior análisis. Para la obtención de almidón y harinas se trabajó únicamente con el endospermo. Es importante mencionar que durante este estudio únicamente se consideraron los granos germinados, con un tamaño de plúmula y radicula similar.

5.3. Obtención de almidón

El endospermo se molió con agua destilada, la mezcla resultante se filtró por malla 100 (150 µm de apertura); reposando durante 12 h a 4 °C. Posteriormente, se retiró el exceso de agua y se realizaron 3 lavados adicionales con agua destilada, centrifugando a 3,000 rpm durante 15 min. El almidón aislado se secó a 50 °C por 24 h.

5.4. Cambios en el perfil de carbohidratos

5.4.1. Contenido aparente de amilosa

Se determinó el contenido de amilosa de los almidones aislados durante la germinación por método colorimétrico basando en el principio complejo amilosa-yodo, según lo descrito por [Juliano *et al.* \(1981\)](#).

5.4.2. Azúcares reductores

Se prepararon suspensiones de las harinas con 0.5 mL de muestra y 0.5 mL de reactivo ácido dinitrosalicílico 3,5 (DNS) de acuerdo con la metodología propuesta por [Saqib & Whitney \(2011\)](#). Las mezclas se colocaron en tubos de ensayo y se sometieron a agua hirviendo durante 5 min, se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se agregaron 5 ml de agua destilada. La absorbancia se medió a 540 nm, utilizando un MultisKan GO. Las medidas se compararon con una curva estándar de D-glucosa para su cuantificación (0-2 g/L) (Sigma-Aldrich).

5.4.3. Contenido de carbohidratos solubles

Para determinar los cambios en el perfil de carbohidratos por cada día de germinación muestras de 1 g de harina se disolvieron en 9 mL de agua ultrapura en tubos de 15 mL, posteriormente los tubos se sometieron a baño maría a 50 °C durante 20 minutos. Después del tratamiento térmico los tubos se centrifugaron a 10,000 g durante 10 minutos. El sobrenadante se recuperó y filtró a través de membranas orgánicas con aperturas de 0.45 µm.

De la muestra procesada se inyectaron 20 µL en un HPLC Agilent acoplado a detector de índice de refracción (IR). Utilizando una columna ZORBAX Carbohydrate (150 mm x 4,6 mm) y una fase móvil de acetonitrilo-agua en una proporción 65:35 (v/v), con un caudal de 0.4 mL/min a 35 °C.

5.4.4. Almidón resistente

La porción de almidón de rápida y lenta digestión, así como de almidón resistente se determinó utilizando el kit comercial de almidón resistente Megazyme (K-RSTAR 05/09, Megazyme International Ireland Ltd, Co. Wicklow, Irlanda) ([AACC Method 32-40.01](#)).

5.5. Caracterización fisicoquímica de los almidones obtenidos durante la germinación

5.5.1. Morfología por microscopía electrónica de barrido

Los cambios en la morfología del almidón aislado se estudiaron utilizando un microscopio electrónico de barrido al vacío (JEOL, JSM-6060LV) con una resolución de 1,000 a 10,0000x al alto vacío. Las muestras se colocaron en esmalte de carbono y se recubrieron con oro. Las condiciones del análisis fueron la tensión de aceleración de electrones 10 KV a 12-20 Pa de presión.

5.5.2. Identificación de la fase cristalina por difracción de Rayos-X

Los cambios en la estructura cristalina de almidón se determinaron mediante difracción de rayos-x utilizando un difractómetro Rigaku-Ultima 4 a 35 KV, 15 mA y longitud de onda de radiación CuK α de $\lambda = 0,1540$ nm. La medición se realizó de 5 a 35° en escala 2 θ para alta resolución, tamaño de paso 0.01° para una mejor intensidad y resolución de cada posible pico difractado para indexarlos según la metodología propuesta por [Rodríguez-García et al. \(2021\)](#).

5.5.3. Análisis vibracional por Espectroscopia Infrarroja

Los cambios en los grupos funcionales del almidón se determinaron mediante un espectrofotómetro FTIR (Perkin Elmer, Spectrum Two) utilizando ATR (reflectancia total atenuada). Todas las muestras fueron homogeneizadas en estufa a 40°C durante 24 h antes del análisis para lograr una humedad mínima. la transmitancia se estableció de 600 a 4000 cm $^{-1}$.

5.5.4. Viscosidad aparente

Las propiedades reológicas (temperatura de gelatinización, pico de viscosidad, viscosidad mínima y final) del almidón se midieron por medio de una célula de almidón en un Anton Paar Rheometer (MCR-102; Austria). Para la preparación de las muestras se agregaron 3g

de harina con 18 mL de agua destilada a la celda. Para la rampa de temperatura, el sistema comenzó a 50 °C manteniéndose un minuto, subsecuentemente la temperatura aumentó de 50 a 90 °C durante 5 min con una tasa de calentamiento de 5.3 °C/min, después la muestra se enfrió a 50 °C y finalmente se mantuvo durante 1 min. A una frecuencia constante de 193 rpm ([Esquivel-Fajardo *et al.*, 2022](#)).

5.5.5. Propiedades térmicas del almidón

Para estudiar el comportamiento térmico del almidón durante la germinación se realizó un análisis de calorimetría diferencial de barrido (DSC) en un calorímetro Mettler Toledo, modelo DSC 1 Star. Para la preparación de la muestra se colocaron 3 mg de almidón en una celda de aluminio de 40 mg, adicionando agua destilada para alcanzar una proporción 1:6. La celda con la muestra se calentó de 30 a 130 °C a una velocidad de calentamiento de 10 °C/min. De los termogramas se obtuvo la temperatura inicial (T_0), temperatura máxima (T_p), temperatura final (T_e) reportadas en grados centígrados y entalpía (ΔH) (J/g). ([Cervantes-Ramírez *et al.*, 2020](#)).

5.6. Diseño y análisis estadístico

Se utilizó un diseño estadístico completamente aleatorizado, con un arreglo factorial considerando como variable independiente el tiempo de germinación. Los datos obtenidos se expresaron como la media \pm desviación estándar. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con comparación de medias por la prueba de Tukey, utilizando el software estadístico R.

VI. Resultados y discusión

1. Cambios morfológicos del maíz

En la [Figura 17](#) se muestran los cambios en la morfología de los granos de maíz. Como resultado de la reactivación de las actividades celulares debido a la imbibición de agua, desde el primer día de remojo es posible observar que la radícula comienza a crecer y ejercer presión sobre el pericarpio ([Figura 17 S1](#)). Posteriormente, después del segundo día de remojo, la radícula ha emergido y la plúmula comienzan a crecer, lo que implica un aumento en la tasa de movilización de las reservas de la semilla. Conforme el proceso de germinación continua raíces seminales laterales aparecen ([Figura 17 G6](#)) y la plúmula continúa desarrollándose. De manera repentina, durante el octavo día de germinación cambios importantes ocurren en los granos al aumentar el tamaño de plúmula y radícula al doble ([Figura 17 G8](#)). [Nieves-Hernández et al. \(2023\)](#) sugirieron que estos cambios en la morfología del grano involucran cambios fisicoquímicos en el endospermo, específicamente en los gránulos de almidón.

De manera interesante, a pesar de que durante este proceso aún no se han desarrollado hojas verdaderas, a partir del día 4 de germinación ([Figura 17 G4](#)) tallos y raíces comienzan a exhibir una fuerte coloración verde. El enverdecimiento de raíces permite que la plántula se prepare para la fotosíntesis temprana, lo que contribuye a la economía del carbono en semillas germinadas una vez se vean expuestas a la luz. [Kobayashi et al. \(2012\)](#) señalan que en *arabidopsis* el mecanismo del cual depende la biosíntesis de cloroplastos es más sencillo en raíces que en tejidos aéreos. La expresión de citoquininas promueve el desarrollo de células fotosintéticas induciendo la síntesis de clorofila. En este sentido, la biogénesis de cloroplastos y posterior acumulación de clorofila ocurre en mayor medida en la raíz y tallo principal.

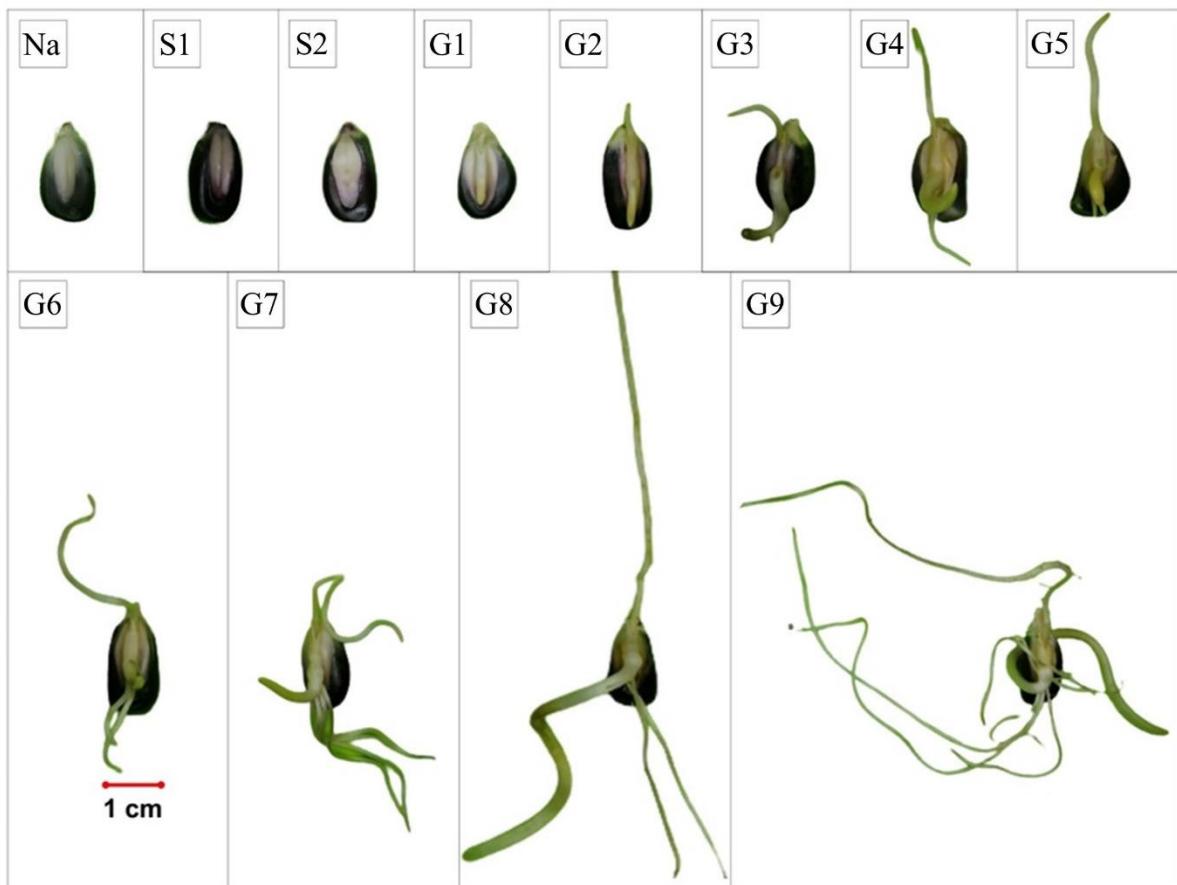
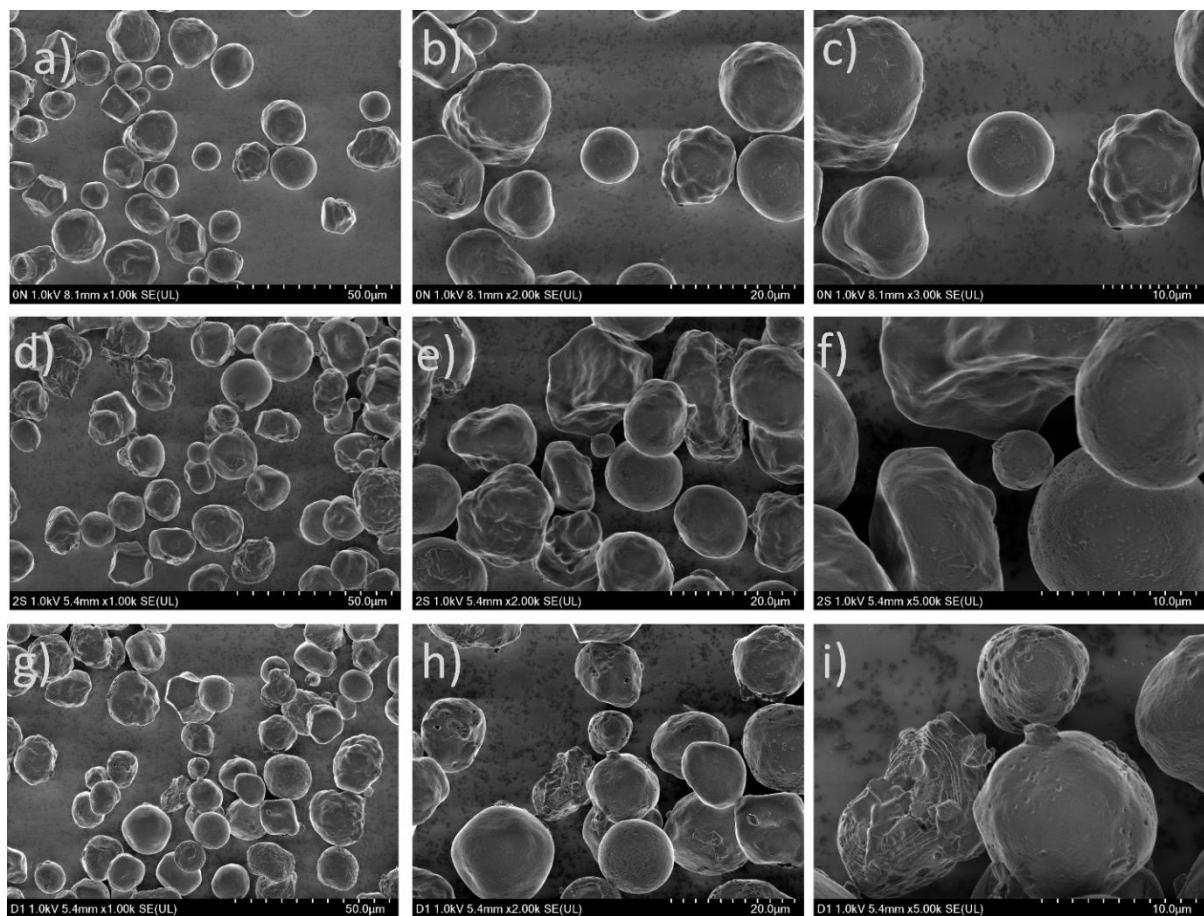


Figura 17. Cambios en la morfología de los granos de maíz a través del proceso de germinación: Nativo (Na), remojo (S1 y S2), día 1 (G1), día 2 (G2), día 3 (G3), día 4 (G4), día 5 (G5), día 6 (G6), día 7 (G7), día 8 (G8) y día 9 (G9) de germinación.

Por otro lado, [Sthapit & Witcombe \(1998\)](#) y [Dutta & Pathak \(2007\)](#) relacionaron el proceso de enverdecimiento con aquellas variedades de arroz con una alta tolerancia al frío, explícitamente aquellas variedades con la capacidad de germinar a temperaturas menores de los 17 °C. Es bien sabido que gracias a la amplia variabilidad genética de los maíces criollos estos pueden adaptarse a condiciones climatológicas adversas.

2. Cambios morfológicos en el almidón de maíz aislado

La [Figura 18](#) corresponde a las micrografías de los gránulos de almidón aislado durante la germinación obtenidas a $1,000 \times$, $2,000 \times$ y $5,000 \times$ aumentos, los cuales mostraron geometrías irregulares, así como poliédricas y semiesféricas ([Figura 18 a-c](#)). Debido a la actividad enzimática desde el primer día de remojo algunos gránulos de almidón comienzan a mostrar la presencia de microporos y daño superficial ([Figura 18 d-f](#)).

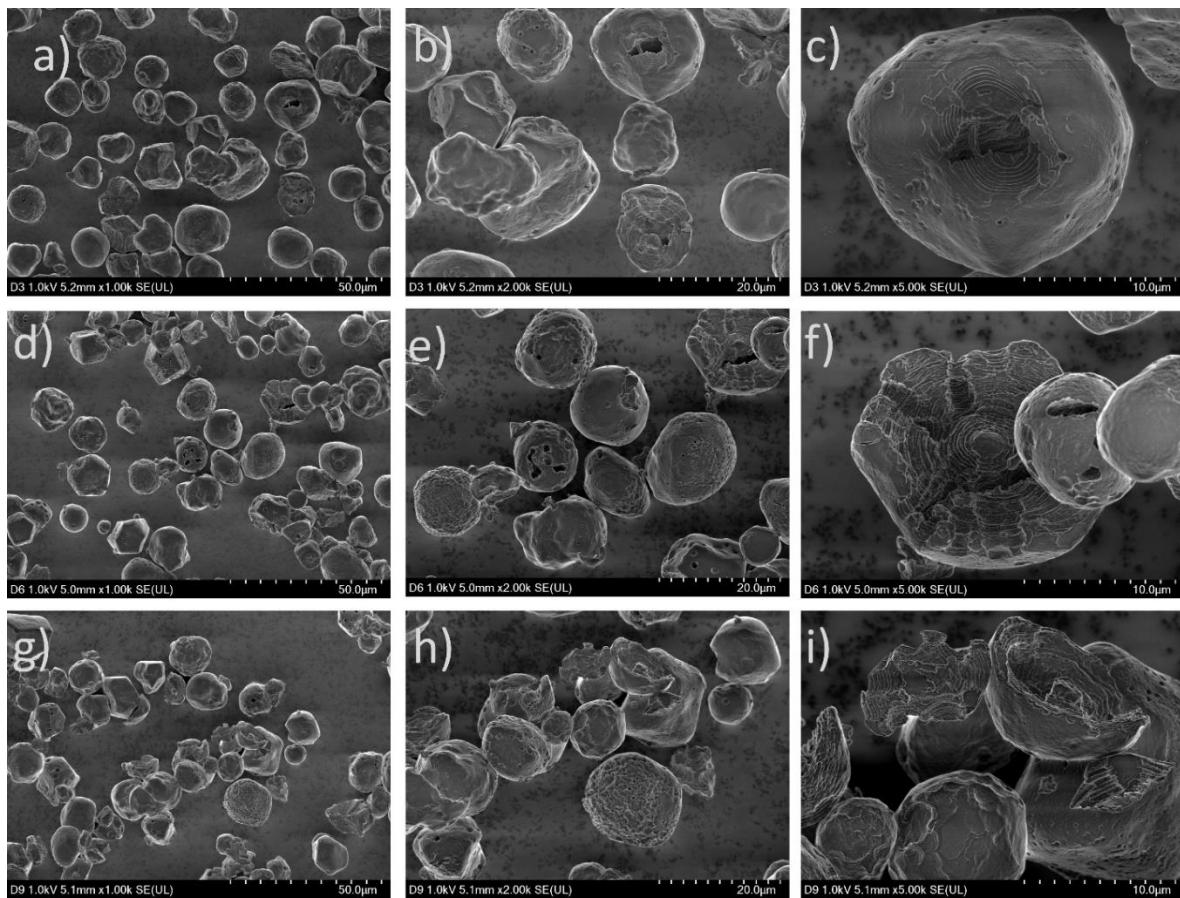


[Figura 18.](#) Micrografías SEM del almidón de maíz aislado en diferentes momentos de germinación. Nativo (a, b y c), día 2 de remojo (d, e y f), y día 1 de germinación (g, h e i).

Adicionalmente, para el primer día de germinación ([Figura 18 g-i](#)) el diámetro y la concentración de los poros ha incrementado lo cual podría permitir la entrada de enzimas al interior de los gránulos de almidón. No obstante, no todos los gránulos exhiben la presencia

de microporos, algunos únicamente presentan daño superficial, mientras que otros permanecen intactos. [Sun et al. \(2015\)](#) proponen que la presencia de gránulos enteros podría deberse a la distancia entre el embrión y las zonas más lejanas de las células del endospermo.

Una vez alcanzado el tercer día de germinación ([Figura 19 a-c](#)) los microporos han aumentado su tamaño, conectándose y colapsando, exponiendo la característica estructura del almidón en forma de cebolla. Conforme la germinación avanza, estos microporos se han prolongado llevando a la formación de canales que se extienden al centro de los gránulos ([Figura 19 d-f](#)). Cabe mencionar que, estos canales podrían afectar las propiedades reológicas del almidón, facilitando la absorción de agua, así como la modificación fisicoquímica de los almidones afectados.



[Figura 19.](#) Micrografías SEM del almidón de maíz aislado en diferentes momentos de germinación. Día 3 (G3), Día 6 (G6) y día 9 (G9) de germinación.

Es importante resaltar que incluso después de 9 días de germinación (Figura 19 g-i) los gránulos de almidón aún no han sido hidrolizados por completo a pesar de la prolongada actividad, e incluso es posible observar gránulos intactos. [Hernández-Becerra *et al.* \(2020\)](#) señalaron, a pesar de la actividad enzimática algunos gránulos de almidón no se ven afectados. De acuerdo con los resultados aquí presentados la relación de gránulos afectados es menor que aquellos gránulos intactos, lo que sugiere que una porción del almidón no se encuentra susceptible al ataque enzimático.

3. Cambios en el perfil de carbohidratos durante la germinación

3.1 Amilosa aparente

La Figura 20 ilustra los cambios en el contenido aparente de amilosa del almidón durante la germinación. Inicialmente, debido a la actividad enzimática sobre las regiones amorfas del almidón, el contenido de amilosa disminuye un 1.17 % durante el segundo día de remojo, proporcionando energía para el desarrollo de la plúmula y las raíces. Sin embargo, a partir del primer día de germinación el contenido aparente de amilosa aumenta regresando a los valores iniciales. Los cambios en el contenido de amilosa son un proceso cinemático en el que los componentes del almidón cambian en función de germinación. Esto significa que la amilosa aparente en realidad es el resultado de varios cambios en el grano y no se encuentra únicamente en función del uso de amilosa; en este caso, no es correcto decir que el contenido de amilosa no presenta cambios.

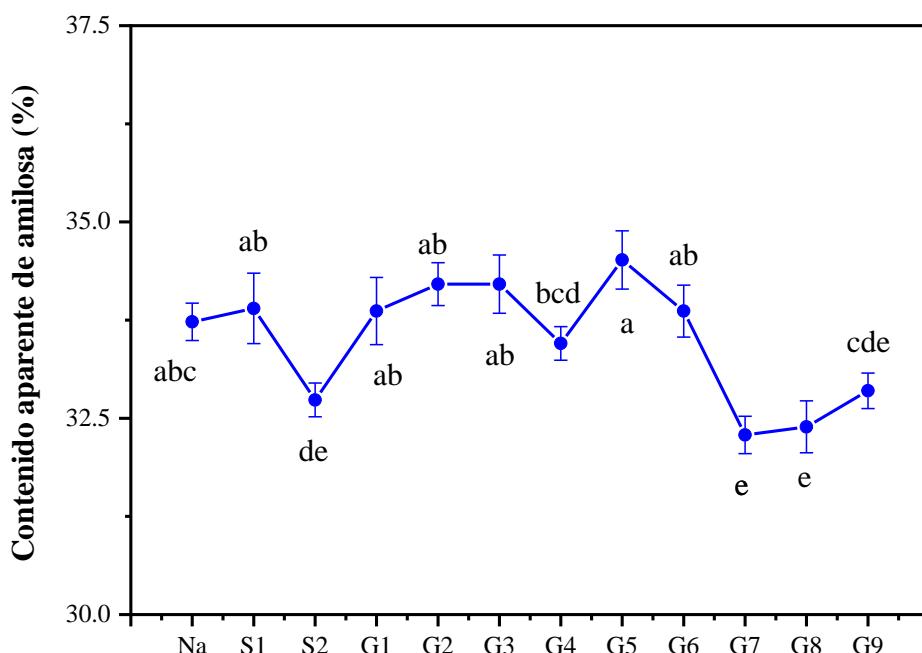


Figura 20. Cambios en el contenido aparente de amilosa en almidón durante el proceso de germinación. Nativo (Na), remojo (S1 y S2), día 1 (G1), día 2 (G2), día 3 (G3), día 4 (G4), día 5 (G5), día 6 (G6), día 7 (G7), día 8 (D8) y día 9 (D9) de germinación.

[Hernández-Becerra *et al.* \(2020\)](#), y [Contreras-Jiménez *et al.* \(2019\)](#) reportaron cambios similares en el contenido de amilosa para la germinación del maíz y la cebada. Los autores relacionaron este comportamiento con la desramificación de las moléculas de amilopectina. No obstante, la desramificación de amilopectina no es el único factor el cual puede alterar este parámetro. Es bien sabido que cadenas con un grado de polimerización (DP) de 40 a 50 unidades pueden interactuar con la solución de yodo utilizada para la cuantificación de amilosa desarrollando complejos de coloración azul ([Yu *et al.*, 1996](#)). Por lo que, tanto la desramificación de amilopectina, así como la hidrolisis de las cadenas de alto peso molecular de amilosa contribuyen a un pseudo-aumento en los niveles de amilosa. En este sentido, [Ma *et al.* \(2020\)](#) reportaron que debido a la actividad enzimática desde el primer día de germinación las moléculas de amilopectina se hidrolizan en componentes más pequeños. Conduciendo a la modificación en el DP de las cadenas de amilopectina y a la liberación de nuevas pseudo-cadenas. De esta manera, a medida que la germinación avanza pseudo-nuevas cadenas con un grado de polimerización de 37 a 60 unidades son liberadas, pudiendo interactuar con la solución diodo y sobreestimando la cuantificación del contenido de amilosa.

Además, a medida que avanza el proceso de germinación, y las moléculas de amilosa y pseudo-nuevas cadenas se hidrolizan en componentes más pequeños perdiendo la capacidad de formar el complejo azul, el contenido de amilosa aparente decrece de manera importante para el séptimo día de germinación

3.2 Azúcares reductores

Como resultado de la hidrólisis parcial del almidón, la cantidad de azúcares reductores aumenta a medida que la germinación avanza. El primer día de remojo la concentración de azúcares reductores aumenta proporcionando al embrión energía para su desarrollo. Durante el segundo día de remojo y el primer día de germinación, la concentración de azúcares reductores disminuye a medida que la plúmula y la radícula crecen y emergen [Figura. 21](#).

Para el tercer día de germinación, la cantidad de azúcares reductores aumenta drásticamente, permitiendo el desarrollo de plumula y radicula ([Figura 17 G3](#)). En este

punto, los microporos se han prolongado provocando el desarrollo de canales que se extienden al núcleo de los gránulos de almidón, como se muestra en la (Figura 19 d-f), lo que facilita el flujo de enzimas. A lo largo de la germinación el contenido de azúcares reductores continúa aumentando. La liberación de azúcares reductores se comporta como una curva logística o en forma de S.

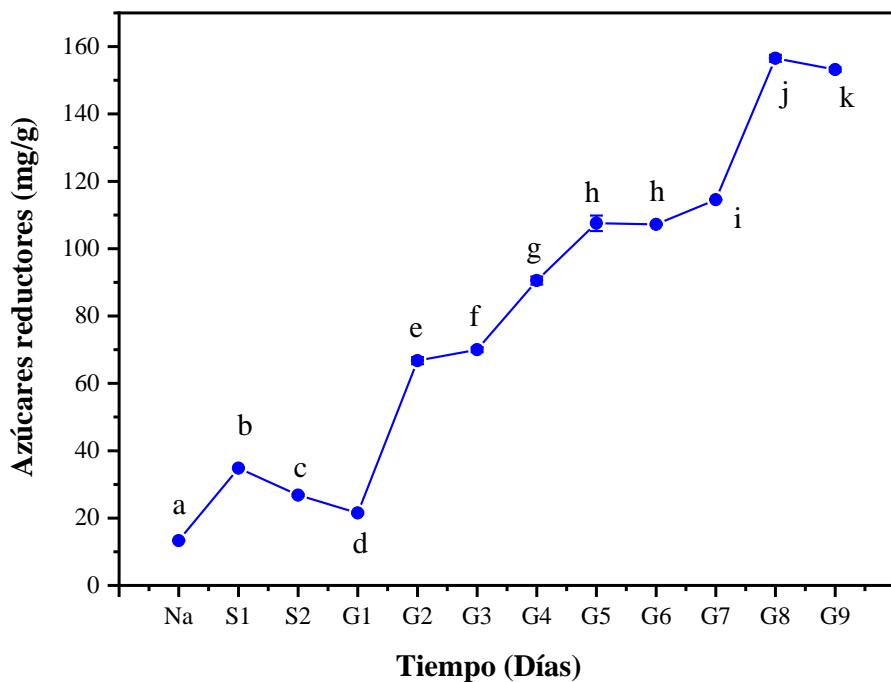


Figura 21. Cambios en el contenido de azúcares reductores en la harina de endospermo durante la germinación. Nativo (Na), remojo (S1 y S2), día 1 (G1), día 2 (G2), día 3 (G3), día 4 (G4), día 5 (G5), día 6 (G6), día 7 (G7), día 8 (G8) y día 9 (G9) de germinación.

3.3 Cambios en el perfil de carbohidratos

La Tabla 1 muestra el contenido de carbohidratos solubles en harinas de endospermo durante la germinación. El análisis de los principales carbohidratos solubles indica que la concentración de sacarosa disminuye drásticamente en un 96% desde el primer día de remojo. Esto sugiere que, durante la etapa de imbibición, el embrión utiliza rápidamente la sacarosa como fuente inicial de energía. En la germinación temprana, las reservas de sacarosa migran a la parte superior del eje embrionario, específicamente a la región de la plúmula, proporcionando energía y carbono para la división celular y el posterior desarrollo de hojas (Sánchez-Linares *et al.*, 2012) Posteriormente en el octavo día de germinación es

possible observar un ligero incremento en la concentración de sacarosa lo cual se podría deber al metabolismo de lípidos. La gluconeogénesis da como resultado la formación de azúcares como sacarosa posterior de la conversión de ácidos grasos en acetil coenzima-A, ácidos orgánicos y finalmente azúcares (Nelson et al., 2013).

Además, desde el primer día de remojo y hasta el primer día de germinación los niveles de glucosa disminuyen en un 16.32% con respecto al contenido original de la semilla. La glucosa contribuye al aumento del eje embrionario, así como a la proliferación y/o diferenciación celular (Lara-Núñez et al., 2017). En este sentido, a partir del primer día de remojo, a medida que el embrión utiliza los azúcares disponibles, la radícula comienza a crecer y ejercer presión sobre el pericarpio (Figura 17 S1). Sin embargo, a partir del segundo día de remojo es posible observar la presencia de microporos en los gránulos de almidón (Figura 18 d-f), así como una disminución del contenido aparente de amilosa (Figura 20) lo que indica que ha comenzado la degradación del almidón y posteriormente la liberación de nuevas glucosas. Esto implica que el consumo y la liberación de glucosa se producen simultáneamente. Más tarde, los niveles de glucosa aumentan hasta un 278.51% a medida que las enzimas hidrolizan parcialmente el almidón.

La β -amilasa cataliza la hidrólisis y la eliminación de sucesivas unidades de maltosa del extremo no reductor de las cadenas de amilosa y amilopectina. Durante la germinación, la acción de la β -amilasa está regulada por la síntesis de novo de la enzima (Laurière et al., 1992). Además, la actividad de la β -amilasa aumenta en función del tiempo de germinación (Guzmán-Ortiz et al., 2019). Así, la maltosa no se detecta hasta el primer día de germinación, cuando la enzima se libera y llega a los gránulos de almidón. Posteriormente, la concentración de maltosa sigue aumentando a medida que continúa la germinación. La liberación de glucosa y maltosa contribuye al comportamiento de la curva logística de los azúcares reductores.

Por otro lado, es posible observar que la concentración de rafinosa aumenta en función del tiempo de germinación. La rafinosa es un oligosacárido cristalino pentahidratado compuesto por α -D-galactosa, α -D-glucosa y β -D-fructosa con enlaces glicosídicos $\alpha(1,6)$ y $\beta(1,2)$. Corresponden al compuesto más pequeño de los oligosacáridos de la familia de las

rafinosas. Este oligosacárido no puede ser hidrolizado por el sistema digestivo, sin embargo, la microbiota intestinal puede fermentar la rafinosa. Así, la rafinosa como prebiótico estimula el crecimiento de microbios en el tracto gastrointestinal (Anggraeni *et al.*, 2022).

La rafinosa juega un papel importante al proteger al embrión de la desecación durante la maduración de la semilla. La rafinosa y otros oligosacáridos pueden sustituir las moléculas de agua de las membranas celulares manteniendo las fracciones cristalinas (Salvi *et al.*, 2022). Durante el desarrollo de las semillas, el almidón se sintetiza en las células del endospermo. A medida que avanza la germinación las paredes celulares se hidrolizan, dando lugar a la liberación de rafinosa. Adicionalmente y a pesar de que se retiró el pericarpio, la aleurona (la cual se encuentra entre el endospermo y el pericarpio) suele permanecer adherida al endospermo y de igual manera, la degradación de este tejido podría contribuir al aumento en la concentración de rafinosa. La rafinosa está relacionada con beneficios a la salud como ayudar a reducir el estreñimiento, inhibir los compuestos putrefactos de las proteínas y la asimilación del colesterol por los probióticos, entre otros (Anggraeni *et al.*, 2022). Por lo tanto, la germinación resulta un método eficaz para mejorar el perfil de carbohidratos de las semillas de maíz.

Tabla 1

Contenido de carbohidratos solubles en harina de maíz nativo y harinas germinadas (mg/ml)

Muestra	Clucosa	Sacarosa	Maltosa	Rafinosa
Na	6.98 ± 0.084 ^a	3.89 ^a	m.l.d.	m.d.l.
S1	6.38 ± 0.005 ^b	0.13 ± 0.015 ^b	m.l.d.	0.41 ± 0.057 ^a
S2	5.37 ± 0.019 ^c	0.31 ± 0.022 ^c	m.l.d.	3.58 ± 0.008 ^b
G1	5.84 ± 0.081 ^d	0.47 ± 0.005 ^d	1.36 ± 0.162 ^a	2.33 ± 0.060 ^c
G2	8.31 ± 0.058 ^e	0.25 ± 0.047 ^c	2.82 ± 0.046 ^b	2.09 ± 0.065 ^c
G3	10.29 ± 0.063 ^f	0.27 ± 0.056 ^c	4.49 ± 0.107 ^c	2.92 ± 0.138 ^d
G4	11.90 ± 0.144 ^g	0.35 ± 0.045 ^c	6.39 ± 0.120 ^d	3.64 ± 0.106 ^b
G5	12.04 ± 0.022 ^g	0.28 ± 0.004 ^c	7.41 ± 0.026 ^e	3.67 ± 0.127 ^b
G6	12.21 ± 0.013 ^g	0.25 ± 0.009 ^c	7.13 ± 0.061 ^{de}	3.57 ± 0.043 ^b
G7	15.28 ± 0.003 ^h	0.32 ± 0.004 ^c	10.26 ± 0.027 ^f	5.16 ± 0.217 ^e
G8	16.89 ± 0.318 ⁱ	1.03 ± 0.004 ^e	13.04 ± 0.462 ^g	7.65 ± 0.046 ^f
G9	19.44 ± 0.012 ^j	m.l.d.	15.24 ± 0.382 ^h	5.01 ± 0.035 ^e

Los valores se expresan como la media de las medidas \pm la desviación estándar. (m.l.d. = menor del límite de detección). IS: Almidón aislado; S1: Día de remojo 1; S2: Día de remojo 2; G1: Día 1 de germinación; G2: Día 2 de germinación; G3: Día 3 de germinación; G4: Día 4 de germinación; G5: Día 5 de germinación; G6: Día 6 de germinación; G7: Día 7 de germinación; G8: Día 8 de germinación; G9: Día 9 de germinación.

4. Caracterización fisicoquímica del almidón

4.1. Cambios estructurales

La Figura 22 muestra los patrones de difracción de rayos-x del almidón aislado durante la germinación correspondientes a una estructura cristalina ortorrómbica. Las líneas discontinuas corresponden a las direcciones (020), (130), (211), (040), (231), (233) y (423) características de la estructura ortorrómbica, estás direcciones se encuentran en los ángulos 2Θ (8.792), (5.240), (4.921), (4.396), (3.858), (2.696) y (1.921) respectivamente, indexados según la metodología propuesta por [Rodriguez-García et al. \(2021\)](#). Estos patrones muestran picos amplios que se originan por la dispersión elástica e inelástica simultánea producida por los nanocristales ([Gong et al., 2016](#)).

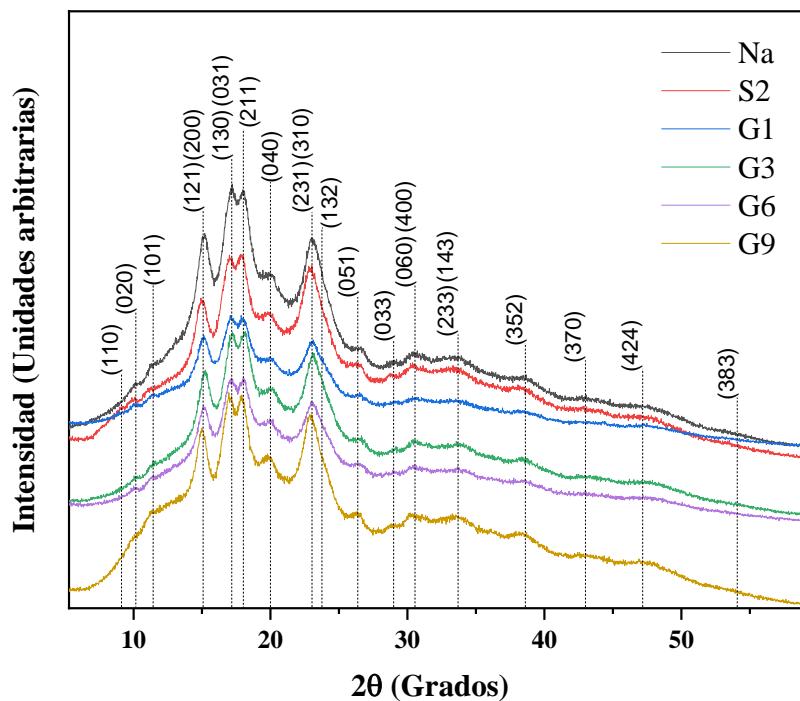


Figura 22. Patrones de difracción de rayos X de almidón de maíz aislado durante el proceso de germinación. Nativo (Na), día 2 de remojo (S2), día 1 (G1), día 3 (G3), día 6 (G6) y día 9 (G9) de germinación.

[Ma et al. \(2020\)](#), [Hernández-Becerra et al. \(2020\)](#) y [Nieves-Hernández et al. \(2023\)](#) también estudiaron la estructura cristalina del almidón durante el proceso de germinación. Los autores no reportaron cambios en la estructura cristalina del almidón. Por lo que según estos patrones de rayos-X, estos cristales no sufren cambios significativos durante la germinación, lo que sugiere que en esta etapa de la germinación las fracciones cristalinas del almidón no son aprovechadas por la semilla.

4.2. Perfil reológico y propiedades térmicas del almidón durante la germinación

4.2.1 Propiedades térmicas

La ([Figura 23 a](#)) muestra los termogramas del almidón de maíz aislado, mientras que la ([Figura 23 b](#)) muestra los perfiles de viscosidad del almidón a distintos tiempos de germinación. Durante el proceso de germinación es posible observar un ligero aumento en la temperatura de gelatinización (T_g) de los almidones aislados. Se ha sugerido que la presencia de azúcares podría afectar la temperatura de gelatinización de la suspensión de almidón. Sin embargo, [Esquivel-Fajardo et al. \(2022\)](#) asociaron esta transición térmica con la solvatación de estructuras nanocrystalinas hexagonales y/u ortorrómbicas. A medida que avanza el proceso de germinación, las estructuras amorfas y semi-cristalinas disminuyen debido a la actividad enzimática. Sin embargo, como se muestra en la [Figura 22](#) las principales estructuras cristalinas no se ven afectadas, lo que resulta en un aumento de estas fracciones por efecto de concentración.

Adicionalmente, al tercer día de germinación la entalpía de transición térmica a 100 °C aumentó significativamente en relación con el almidón nativo. Se ha sugerido que la transición térmica a 100 °C corresponde a la formación de complejos almidón-lípidos (SLC). Los SLC se pueden clasificar en dos categorías diferentes, el tipo I corresponde a complejos amorfos desordenados, mientras que el tipo II refiere a complejos ordenados con una estructura cristalina característica ([Li et al., 2021](#)). A través de la germinación, los ácidos grasos poliinsaturados se hidrolizan en ácidos grasos saturados y monosaturados ([Nelson et al., 2013](#)). Esta liberación de ácidos grasos podría contribuir a la formación de SLC tipo I, al rodear los gránulos de almidón y formando una barrera física que los proteja

de la actividad enzimática. En este sentido, [Xu et al. \(2021\)](#), y [Wu et al. \(2013\)](#) sugirieron la formación de complejos amilosa-lípidos durante la germinación. Sin embargo, no indexaron los termogramas con la transición característica de los complejos amilosa-lípido a 100 °C.

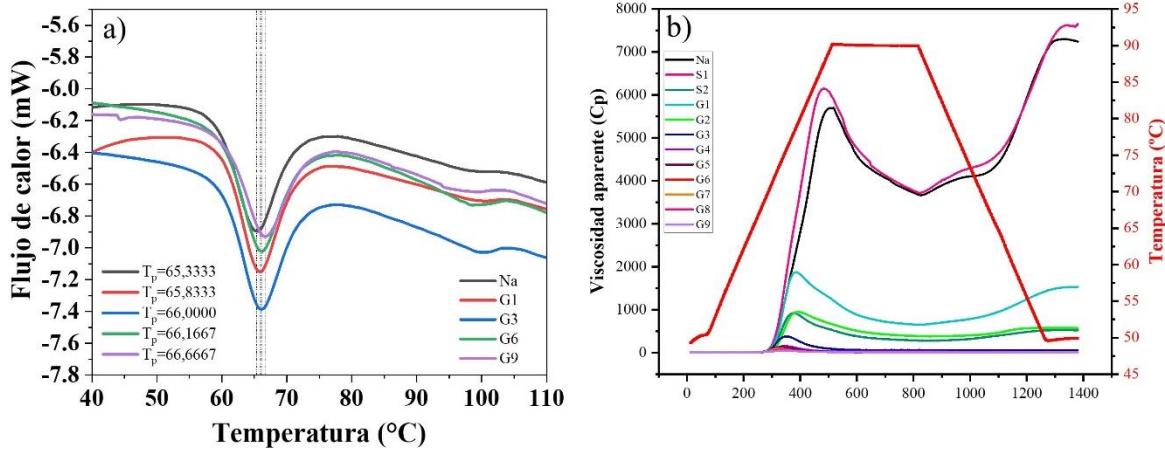


Figura 23. a) Termogramas de DSC, y cambios de temperatura pico y b) perfiles de viscosidad del almidón de maíz aislado en diferentes momentos de germinación. Nativo (Na), remojo (S1 y S2), día 1 (G1), día 2 (G2), día 3 (D3), día 4 (G4), día 5 (G5), día 6 (G6), día 7 (G7), día 8 (G8) y día 9 (G9) de germinación.

La formación de estos complejos mediante el proceso de extrusión ya había sido reportada por [Cervantes-Ramírez et al. \(2020\)](#) utilizando almidón de maíz, así como ácido esteárico, ácido oleico y aceite de maíz. No obstante, a diferencia de los complejos formados durante la germinación estos si presentaron los patrones de rayos-x característicos lo cual indica que se trataba de un SLC tipo II. Lo anterior sugiere que la germinación podría representar una alternativa económica para la formación de SLC tipo I. Sin embargo, cabe señalar que el tamaño del embrión de la variedad de maíz utilizada ([Figura 17](#)) corresponde a una parte importante de la composición total del grano, lo cual resulta en una mayor concentración de ácidos grasos. Lo anterior indica que no sería posible generalizar sobre los efectos que la germinación tiene en la formación de SLP en semillas con distinto tamaño de germen.

3.2.2 Perfil reológico

La ([Figura 24](#) a) muestra los cambios en la viscosidad máxima y final, y ([Figura 25](#) b) la primera derivada de la viscosidad máxima. Debido a la imbibición de agua, los gránulos de

almidón pueden aumentar su tamaño en un 10%. Como resultado, durante la primera etapa de remojo, la viscosidad aparente aumenta en contraste con el almidón nativo. Hernández-Becerra *et al.* (2020) relacionaron este aumento de viscosidad con la difusión de agua dentro de los gránulos de almidón. Posteriormente, al segundo día de remojo, la viscosidad aparente de la suspensión de almidón disminuye drásticamente. Xu *et al.* (2021) propusieron que la actividad enzimática sobre los enlaces α (1,6), resulta en un gel con mejores características de solubilidad. Además, Hernández-Becerra *et al.* (2020) sugirieron que la presencia de azúcares reductores podría afectar la viscosidad aparente de la suspensión de almidón. Sin embargo, como se muestra en la Figura 18 ((d)-f)), en esta etapa de germinación, solo unos pocos gránulos de almidón presentan microporos y degradación de la superficie. Por otro lado, el contenido de azúcares al segundo día de

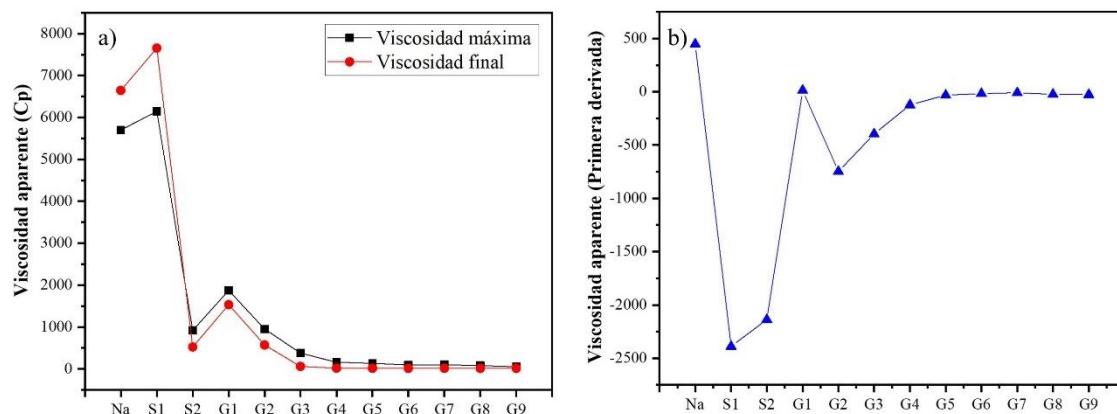


Figura 24. a) Cambios en la viscosidad máxima y final del almidón aislado y b) primera derivada de la viscosidad máxima en función del tiempo de germinación. Nativo (Na), remojo (S1 y S2), día 1 (G1), día 2 (G2), día 3 (G3), día 4 (G4), día 5 (G5), día 6 (G6), día 7 (G7), día 8 (G8) y día 9 (G9) de germinación.

remojo (Tabla 1) es menor que en el maíz nativo. Por lo tanto, en esta etapa de germinación los azúcares no afectan el perfil de viscosidad de las harinas. Adicionalmente, los resultados sugieren que sólo algunos gránulos de almidón contribuyen al perfil de viscosidad.

Durante el primer día de germinación, debido a la acción combinada de la α y la β -amilasa, el diámetro y la concentración de los microporos aumentan significativamente (Figura 18 g-i). Adicionalmente, aunque en menor proporción la acción de proteasas y lipasas ha

degradado parcialmente proteínas y ácidos grasos del almidón (Guzmán-Ortiz *et al.*, 2019). La expresión de poros en la superficie del almidón permite que el agua penetre en los gránulos, por lo tanto, la viscosidad máxima aumenta ligeramente (Figura 24 a). A partir de este punto, a medida que la germinación continúa, la viscosidad máxima y final disminuyen. Con una germinación prolongada, la longitud de las cadenas de amilosa y amilopectina cambia, lo que lleva a un aumento en la fracción de cadenas cortas (Ma *et al.*, 2020). Debido a la fragmentación y desramificación de amilopectina, así como la hidrolisis de la amilosa la viscosidad aparente del almidón disminuye mientras que el contenido de azúcares reductores aumenta durante la germinación (Hernández-Becerra *et al.*, 2020; Nieves-Hernández *et al.*, 2023). Además, como se muestra en la (Figura 24 b) bajo el criterio de la primera derivada, a partir del día 5 de germinación la viscosidad máxima no sufre cambios. Un medio con menor viscosidad facilita la actividad enzimática, por lo que, desde un punto de vista reológico, este tiempo es suficiente, a pesar de que la radícula no alcanza el doble de longitud que la semilla en un proceso de malteo.

Sin embargo, las micrografías de cada día de germinación es posible observar granos enteros de almidón que podrían contribuir al proceso de gelatinización, ya que su grado de polimerización no se afecta. En este sentido Oseguera-Toledo *et al.* (2020) relacionaron la disminución de la viscosidad con la modificación enzimática del almidón, pero no describieron dicha modificación. Además, Xu *et al.* (2021) y Wu *et al.* (2013), también reportaron una disminución en la viscosidad máxima para diferentes variedades de arroz germinado, pero los autores atribuyeron este comportamiento a la formación de SLC. A medida que avanza la germinación una segunda transición térmica a 100 °C aparece (Figura 23 a), Cervantes-Ramírez *et al.* (2020) relacionaron a esta transición con la formación de SLC. Esquivel-Fajardo *et al.* (2022) reportaron que los SLC no se ven afectados por la gelatinización. En este sentido, al no alcanzar la temperatura necesaria para disociar los complejos, esta fracción de almidón no contribuye a la gelatinización.

5. Análisis vibracional del almidón durante la germinación

La Figura 25 muestra el espectro FTIR de almidones de maíz aislados y germinados. A medida que avanza la germinación, las reservas de la semilla se hidrolizan para liberar

nutrientes y energía para el desarrollo del embrión. En este sentido, las bandas localizadas a 1,550 y 1,640 cm^{-1} disminuyen en función del tiempo de germinación. Las principales bandas de absorción asociadas con las proteínas se describen en estos números de onda, características para la amida II y I respectivamente (Carbonaro & Nucara, 2010). Adicionalmente, la banda ubicada en 1698 cm^{-1} se asocia comúnmente con la vibración de estiramiento del grupo carbonilo ($\text{C} = \text{O}$) debido a la presencia de lípidos, mientras que las bandas en 1463 y 1312 cm^{-1} se atribuyen a la flexión y deformación asimétrica de grupos - CH_3 y - CH , respectivamente.

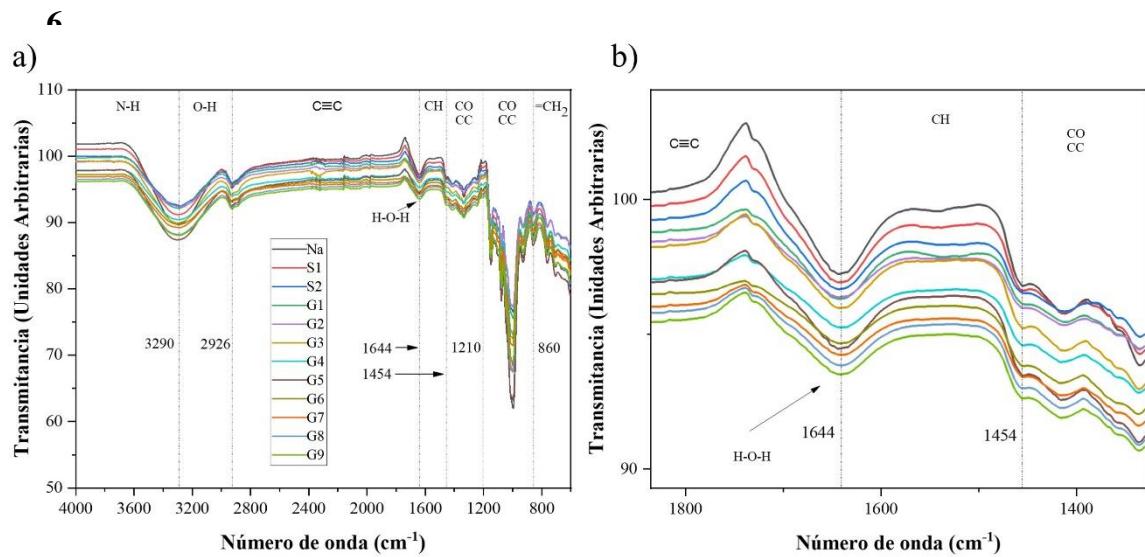


Figura 25. Espectros FTIR de almidón de maíz aislado mediante germinación. a) Número de onda de 4000 a 600 cm^{-1} , y b) de 1800 a 1500 cm^{-1} .

Almidón resistente

La Figura 26 muestra el contenido de almidón de rápida absorción (RDS), lenta absorción (SDS) y almidón resistente (RS) durante el proceso de germinación. Se observa que el contenido de almidón resistente disminuye respecto al tiempo germinación, al mismo tiempo, las concentraciones de almidón de rápida y lenta absorción varían de manera dinámica en función del tiempo de germinación.

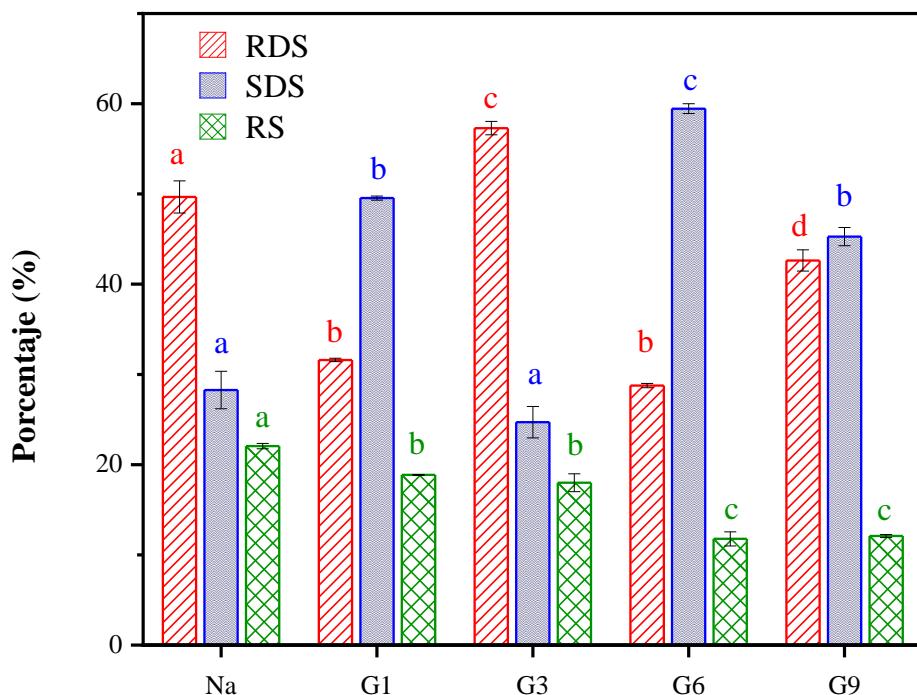


Figura 26. Cambios en la digestibilidad del almidón: almidón de digestión rápida (RDS), almidón de digestión lenta (SDS) y almidón resistente (RS) durante la germinación. Almidón nativo (Na), día 1 (G1), día 3 (G3), día 6 (G6) y día 9 (G9) de germinación.

Nieves-Hernández *et al.* (2023) hipotetizaron que la actividad enzimática ocurre de manera selectiva con preferencia por las zonas amorfas del almidón. A pesar de que la cantidad de azúcares incrementa en función del tiempo de germinación en harinas, la digestibilidad *in vitro* del almidón aislado cambia de manera dinámica debido a que esta depende de distintos factores. En este sentido, el almidón disponible es hidrolizado por las enzimas para liberar azúcares al embrión. Por lo tanto, la cantidad de RDS disminuye a medida que la semilla utiliza el almidón disponible hasta el primer día de germinación. Generalmente,

los gránulos de almidón están protegidos por ácidos grasos, proteínas o paredes celulares que se comportan como una barrera física entre los gránulos y el sistema gastrointestinal. Este almidón se clasifica como RS tipo 1 o almidón físicamente inaccesible (Wang *et al.*, 2023c). Sin embargo, a medida que avanza la germinación, las enzimas también hidrolizan fibra, proteínas y ácidos grasos, provocando la pérdida de estas barreras. En consecuencia, desde el primer día de germinación la cantidad de RS disminuye.

Posteriormente, a partir del segundo día de remojo, la actividad enzimática ha provocado el desarrollo de microporos en algunos gránulos, facilitando el acceso de las enzimas (Figura 18 d-f). Posteriormente, durante el tercer día de germinación, debido a la formación de canales que se extienden hasta el núcleo de los gránulos (Figura 19 a-c), así como la aparición de nuevos microporos en gránulos que hasta el momento permanecían intactos el almidón se encuentra altamente disponible a la acción de las enzimas debido a una mayor área de contacto así como a la perdida de barreras física que protejan las principales moléculas del almidón, en consecuencia, la cantidad de RDS aumenta significativamente. En la germinación de maíz *puma* y *palomero* Hernández-Becerra *et al.* (2020) reportaron que, en este punto de germinación la longitud de la raíz ha alcanzado el doble del tamaño del grano. Este parámetro se utiliza como índice de calidad para la malta, lo que indica el punto óptimo para producir bebidas alcohólicas. La industria malteadora se centra en la longitud de la radícula versus el tamaño del grano para determinar cuándo la malta está lista. En este punto existe una mayor cantidad de almidón disponible, sin embargo, la (Figura 17 G3) muestra que para esta variedad de maíz la radícula aún no ha alcanzado el doble de la longitud del grano. Lo anterior sugiere que el parámetro del tamaño de la raíz no es el mejor para determinar la viabilidad de la malta para producir bebidas alcohólicas.

Finalmente, a medida que continúa la germinación, las enzimas hidrolizan el almidón disponible, por lo que la cantidad de RDS y RS disminuye, mientras que la concentración de SDS aumenta. Los mecanismos para la formación de SDS, especialmente en alimentos procesados térmicamente, siguen siendo inciertos (Martínez *et al.*, 2018). No obstante, Oseguera-Toledo *et al.* (2020) sugirieron que durante la germinación el almidón podría sufrir modificaciones enzimáticas. Además, Xu *et al.* (2021) y Wu *et al.* (2013) reportaron

una disminución en el contenido de RDS y RS, mientras que el contenido de SDS aumentó durante la germinación del arroz, los autores relacionaron el aumento de SDS con la formación de complejos almidón-lípidos. Según su arquitectura, los complejos almidón-lípidos se pueden clasificar en dos tipos. El tipo I se refiere a los complejos amorfos desordenados, por otro lado, el tipo II se refiere a complejos ordenados con una estructura cristalina característica (Li *et al.*, 2021). El catabolismo lipídico durante la germinación conduce a la generación de azúcares como sacarosa. Asimismo, se ha observado que este proceso mejora el perfil nutricional al disminuir las concentraciones de ácidos grasos poliinsaturados, al tiempo que aumenta los niveles de ácidos grasos saturados y monosaturados como el ácido esteárico, así como un cambio en la relación entre omega 3 y 6. (Nelson *et al.*, 2013). En este sentido, a temperatura ambiente los ácidos grasos pueden cubrir los gránulos de almidón y afectar la difusión de agua dentro del gránulo y su capacidad de hinchamiento (Cervantes-Ramírez *et al.*, 2020). Sin embargo, como los complejos almidón-lípidos suelen formarse por acción de procesos térmicos, pero el mecanismo del desarrollo de estos complejos en el proceso de germinación sigue siendo incierto.

Nieves-Hernández *et al.* (2023) señalaron que la fracción cristalina del almidón no presenta cambios en función del tiempo de germinación. Rojas-Molina *et al.* (2014) vincularon esta fracción con el RS tipo 2. El RS tipo 2 se ha relacionado con almidón crudo de papa o maíz con alto contenido de amilosa debido a una disposición cristalina específica que brinda protección a la actividad enzimática (Wang *et al.*, 2021a). Lo anterior sugiere que el RS presente del día 6 al 9 de germinación corresponde a la fracción cristalina del almidón, la cual no se ve afectada por la actividad enzimática. Desde esta perspectiva, no existen cambios significativos del día 6 al día 9 de germinación en el contenido de RS.

VII. Conclusiones

El desarrollo de plúmula y radícula durante la germinación del maíz conlleva a cambios en la composición del endospermo, así como en la estructura y, por consiguiente, en las propiedades fisicoquímicas del almidón. La sacarosa se utiliza como fuente de energía inicial y la glucosa y la maltosa son los principales azúcares liberados durante la germinación. La rafinosa aumenta en función del tiempo debido a la degradación de la pared celular. La concentración aparente de amilosa no cambia drásticamente porque una parte se produce por la desramificación de la amilopectina y existe un equilibrio entre formación y consumo, como lo demuestra el aumento de azúcares reductores.

El cambio en las propiedades fisicoquímicas, así como en la digestibilidad del almidón, se deben en gran medida a la formación de canales que se extienden al centro de los gránulos. En este tenor, la germinación representa un método efectivo y económico para la modificación enzimática del almidón, resultando en almidones porosos. Los patrones de difracción de rayos-X mostraron que este almidón contiene nanocristales con una estructura cristalina ortorrómbica. Pero lo más importante es que no participan en la germinación, lo que abre una nueva ventana para su estudio. Los termogramas de calorimetría de barrido mostraron que estos nanocristales poseen un punto de fusión alrededor de los 65 °C, así como la presencia de complejos amilosa-lípidos tipo I los cuales no contribuyen en el proceso de gelatinización. Los viscoamilogramas muestran que la viscosidad pico y final disminuyen en función del tiempo de germinación. Los espectros IR del almidón muestran la disminución del contenido de proteínas en función del tiempo de germinación.

Durante el primer día de germinación la concentración de azúcares es la menor con respecto a otros días de germinación, adicionalmente las harinas provenientes de estos granos poseen la capacidad de formar geles. La presencia de SDS correspondiente a estos granos se puede atribuir a elementos como paredes celulares, proteínas y ácidos grasos, así como estructuras de almidón con alta densidad que dificultan la acción enzimática, a la vez que proveen de una mayor dureza al grano. Por otro lado, durante el sexto día de germinación la dureza del grano ha disminuido debido a la degradación del almidón, resultando en un grano crujiente el cual puede ser consumido como grano entero sin la

necesidad de un procesamiento adicional. Además, debido al incremento en el nivel de azúcares estos granos poseen notas dulces, lo cual facilita el agregarlos a alimentos como ensaladas o consumirlos como botanas que no necesitan de un procesamiento térmico, la adición de aceites, sal, saborizantes o aditivos. En estos granos, las altas concentraciones de SDS se deben al SLP tipo I. En el caso del almidón resistente, este disminuye en función del tiempo de germinación hasta el sexto día. A partir de este momento, la concentración de RS no cambia. Esto podría deberse a que los nanocristales con estructura cristalina ortorrómbica no se ven afectados por la germinación y forman parte del RS₂.

La germinación entonces, demostró ser un método eficiente y económico para mejorar el perfil de carbohidratos al aumentar la concentración de rafinosa, además de disminuir el contenido de RDS y aumentar los niveles de SDS, así como modificar las propiedades fisicoquímicas del almidón. No obstante, se recomiendan estudios adicionales que permitan evaluar como el procesamiento térmico podría alterar el perfil digestivo de almidones germinados.

VIII. Bibliografía

Ai, Y., & Jane, J.-L. (2018). Understanding starch structure and functionality. *Starch in Food* (pp. 151–178). <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100868-3.00003-2>

Amador, C. R. V. (2005). Propiedades físicas y fisicoquímicas del grano, nixtamal, masa y tortillas elaboradas con maíz germinado, y la evaluación sensorial de las tortillas. Universidad Veracruzana. Recuperado de <https://cdigital.uv.mx/bitstream/handle/123456789/46776/ValderrabanoAmadorClar aRuth.pdf?sequence=2&isAllowed=y>

Anggraeni, A. A. (2022, February). Mini-review: The potential of raffinose as a prebiotic. In IOP Conference Series: *Earth and Environmental Science* (Vol. 980, No. 1, p. 012033). IOP Publishing. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/980/1/012033>

Ashford, A. E., & Gubler, F. (1984). Mobilization of polysaccharide reserves from endosperm. *Germination and Reserve Mobilization* (pp. 117–162). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-511902-3.50009-9>

Bejosano, F.P., Corke, H., 1999. Effect of amaranthus and buckwheat proteins on the rheological properties of maize starch. *Food Chem.* 65, 493–501. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00227-1](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00227-1)

BeMiller, J. N. (2019). Starches. *Carbohydrate Chemistry for Food Scientists* (pp. 159–189). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812069-9.00006-6>

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>

Birt, D. F., Boylston, T., Hendrich, S., Jane, J.-L., Hollis, J., Li, L., McClelland, J., Moore, S., Phillips, G. J., Rowling, M., Schalinske, K., Scott, M. P., & Whitley, E. M. (2013). Resistant starch: promise for improving human health. *Advances in Nutrition* (Bethesda, Md.), 4(6), 587–601. <https://doi.org/10.3945/an.113.004325>

Bojarczuk, A., Skąpska, S., Mousavi Khaneghah, A., & Marszałek, K. (2022). Health benefits of resistant starch: A review of the literature. *Journal of Functional Foods*, 93(105094), 105094. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.105094>

BYJU'S. (2022, July 4) Scutellum is reported in:. Byjus.com; <https://byjus.com/question-answer/scutellum-is-reported-in-4/>

Carbonaro, M., & Nucara, A. (2010). Secondary structure of food proteins by Fourier transform spectroscopy in the mid-infrared region. *Amino acids*, 38, 679-690. <https://doi.org/10.1007/s00726-009-0274-3>

Centro International de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). (2019). Maíz para México planestratégico 2030. <https://repository.cimmyt.org/bitstream/handle/10883/20219/60937.pdf>

Cervantes-Ramírez, J. E., Cabrera-Ramirez, A. H., Morales-Sánchez, E., Rodriguez-García, M. E., Reyes-Vega, M. de la L., Ramírez-Jiménez, A. K., Contreras-Jiménez, B. L., & Gaytán-Martínez, M. (2020). Amylose-lipid complex formation from extruded maize starch mixed with fatty acids. *Carbohydrate Polymers*, 246(116555), 116555. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116555>

Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP), Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). (2016). Programa de conservación de maíz criollo en México. https://www.conanp.gob.mx/maiz_criollo/maiz%20final.pdf

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT). (2021). Expediente científico sobre el glifosato y los cultivos GM. <https://conacyt.mx/expediente-cientifico-sobre-el-glifosato-y-los-cultivos-gm/>

Contreras-Jiménez, B., Del Real, A., Millan-Malo, B. M., Gaytán-Martínez, M., Morales-Sánchez, E., & Rodríguez-García, M. E. (2019). Physicochemical changes in barley starch during malting: Physicochemical changes in barley starch during malting.

Journal of the Institute of Brewing. Institute of Brewing (Great Britain), 125(1), 10–17. <https://doi.org/10.1002/jib.547>

Crowley, T. E. (2020). X-ray crystallography. *Purification and Characterization of Secondary Metabolites* (pp. 79–84). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813942-4.00008-5>

Ding, J., & Feng, H. (2019). Controlled germination for enhancing the nutritional value of sprouted grains. *Sprouted Grains* (pp. 91–112). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811525-1.00005-1>

Domínguez, L. (2019, mayo 2022). Tras los pasos del maíz criollo, 50 años después. CIMMYT. <https://www.cimmyt.org/es/noticias/tras-los-pasos-del-maiz-criollo-50-anos-despues/>

Dutta, D., & Pathak, P. K. (2007). Response of assam rice varieties to low temperature stress. *Indian Journal of Plant Genetic Resources*, 20(01), 57-63. <http://ispgr.in/index.php/ijpgr/article/download/1296/1274>

Eliasson, A.-C. (2010). Gelatinization and retrogradation of starch in foods and its implications for food quality. *Chemical Deterioration and Physical Instability of Food and Beverages* (pp. 296–323). <https://doi.org/10.1533/9781845699260.2.296>

Esquivel-Fajardo, E. A., Martinez-Ascencio, E. U., Oseguera-Toledo, M. E., Londoño-Restrepo, S. M., & Rodriguez-García, M. E. (2022). Influence of physicochemical changes of the avocado starch throughout its pasting profile: Combined extraction. *Carbohydrate Polymers*, 281(119048), 119048. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.119048>

Fernández Suárez, R., Morales Chávez, L. A., & Gálvez Mariscal, A. (2013). Importancia de los maíces nativos de México en la dieta nacional: Una revisión indispensable. *Revista fitotecnia mexicana*, 36, 275-283. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802013000500004

Figueroa Cárdenas, J. D. D., Narváez González, D. E., Mauricio Sánchez, A., Taba, S., Gaytán Martínez, M., Vélez Medina, J. J., ... & Aragón Cuevas, F. (2013). Propiedades físicas del grano y calidad de los grupos raciales de maíces nativos (criollos) de México. *Revista fitotecnia mexicana*, 36, 305-314. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0187-73802013000500007&script=sci_abstract&tlang=pt

Finnie, S., Brovelli, V., & Nelson, D. (2019). Sprouted grains as a food ingredient. *Sprouted Grains* (pp. 113–142). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811525-1.00006-3>

Gao, L., Wu, Y., Wan, C., Wang, P., Yang, P., Gao, X., Eeckhout, M., & Gao, J. (2022). Structural and physicochemical properties of pea starch affected by germination treatment. *Food Hydrocolloids*, 124(107303), 107303. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107303>

Gaytán-Martínez, M., Figueroa-Cárdenas, J. D., Reyes-Vega, M. L., Rincón-Sánchez, F., & Morales-Sánchez, E. (2006). Microstructure of starch granule related to kernel hardness in corn. *Revista fitotecnia mexicana*, 29(Especial_2), 135. https://doi.org/10.35196/rfm.2006.especial_2.135

Gaytán-Martínez, Marcela, Figueroa-Cárdenas, Juan de D., Reyes-Vega, María de la L., Morales-Sánchez, Eduardo, & Rincón-Sánchez, Froylán. (2013). Selección de maíces criollos para su aplicación en la industria con base en su valor agregado. *Revista fitotecnia mexicana*, 36(Supl. 3-a), 339-346. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802013000500010&lng=es&tlang=es

Gong, B., Liu, W., Tan, H., Yu, D., Song, Z., & Lucia, L. A. (2016). Understanding shape and morphology of unusual tubular starch nanocrystals. *Carbohydrate Polymers*, 151, 666-675. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.06.010>

Gupta (2016, February 2). Seeds: Definition and structure. *Biology Discussion*.

<https://www.biologydiscussion.com/seed/seeds-definition-and-structure-with-diagram/20080>

Guzmán-Ortiz, F.A., Castro-Rosas, J., Gómez-Aldapa, C.A., Mora-Escobedo, R., Rojas-León, A., Rodríguez-Marín, M.L., Falfán-Cortés, R.N., Román-Gutiérrez, A.D., 2019. Enzyme activity during germination of different cereals: a review. *Food Rev. Int.* 35, 177–200. <https://doi.org/10.1080/87559129.2018.1514623>

Heldt, H.-W., & Piechulla, B. (2011). Polysaccharides are storage and transport forms of carbohydrates produced by photosynthesis. *Plant Biochemistry* (pp. 241–271). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384986-1.00009-0>

Hernández-Becerra, E., Contreras-Jiménez, B., Vuelvas-Solorzano, A., Millan-Malo, B., Muñoz-Torres, C., Oseguera-Toledo, M. E., & Rodriguez-Garcia, M. E. (2020). Physicochemical and morphological changes in corn grains and starch during the malting for Palomero and Puma varieties. *Cereal Chemistry*, 97(2), 404–415. <https://doi.org/10.1002/cche.10256>

Hübner, F., & Arendt, E. K. (2013). Germination of cereal grains as a way to improve the nutritional value: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(8), 853–861. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.562060>

Ismail, A. A., van de Voort, F. R., & Sedman, J. (1997). Chapter 4 Fourier transform infrared spectroscopy: Principles and applications. *Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry* (pp. 93–139). [https://doi.org/10.1016/S0167-9244\(97\)80013-3](https://doi.org/10.1016/S0167-9244(97)80013-3)

Jenkins, D. J., Kendall, C. W., Augustin, L. S., Franceschi, S., Hamidi, M., Marchie, A., ... & Axelsen, M. (2002). Glycemic index: overview of implications in health and disease. *The American journal of clinical nutrition*, 76(1), 266S-273S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/76.1.266S>

Ji, H., Li, X., Bai, Y., Shen, Y., & Jin, Z. (2021). Synergetic modification of waxy maize starch by dual-enzyme to lower the in vitro digestibility through modulating molecular structure and malto-oligosaccharide content. *International Journal of Biological Macromolecules*, 180, 187–193.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.02.219>

Joshi, R. (2018). Role of enzymes in seed germination. *International Journal of Creative Research Thoughts*, 6(2), 1481-1485.

<https://www.researchgate.net/publication/325668819>

Juliano, B. O., Perez, C. M., Blakeney, A. B., Castillo, T., Kongseret, N., Laignelet, B., Lapis, E. T., Murty, V. V. S., Paule, C. M., and Webb, B. D. (1981) International cooperative testing on the amylose content of milled rice, *Starch/Stärke* 33, 157–162. <https://doi.org/10.1002/star.19810330504>

Kato, T. Á., Mapes, C., Mera, L. M., Serratos, J. A., & Bye, R. A. (2009). Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica. Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, DF, 116.

https://www.biodiversidad.gob.mx/publicaciones/versiones_digitales/Origen_deMaiz.pdf

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>

Kim, H., Kim, O.-W., Ahn, J.-H., Kim, B.-M., Oh, J., & Kim, H.-J. (2020). Metabolomic analysis of germinated brown rice at different germination stages. *Foods* (Basel, Switzerland), 9(8), 1130. <https://doi.org/10.3390/foods9081130>

Kobayashi, K., Baba, S., Obayashi, T., Sato, M., Toyooka, K., Keränen, M., Aro, E.-M., Fukaki, H., Ohta, H., Sugimoto, K., & Masuda, T. (2012). Regulation of root

greening by light and auxin/cytokinin signaling in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 24(3), 1081–1095. <https://doi.org/10.1105/tpc.111.092254>

Lara-Núñez, A., García-Ayala, B. B., Garza-Aguilar, S. M., Flores-Sánchez, J., Sánchez-Camargo, V. A., Bravo-Alberto, C. E., ... & Vázquez-Ramos, J. M. (2017). Glucose and sucrose differentially modify cell proliferation in maize during germination. *Plant physiology and biochemistry*, 113, 20-31.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.01.018>

Laurière, C., Doyen, C., Thévenot, C., & Daussant, J. (1992). β -Amylases in cereals: a study of the maize β -amylase system. *Plant physiology*, 100(2), 887-893.
<https://doi.org/10.1104/pp.100.2.887>

Lemmens, E., Moroni, A. V., Pagand, J., Heirbaut, P., Ritala, A., Karlen, Y., Lê, K.-A., Van den Broeck, H. C., Brouns, F. J. P. H., De Brier, N., & Delcour, J. A. (2019). Impact of cereal seed sprouting on its nutritional and technological properties: A critical review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(1), 305–328. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12414>

Li, L., Liu, Z., Zhang, W., Xue, B., & Luo, Z. (2021). Production and applications of amylose-lipid complexes as resistant starch: recent approaches. *Starch-Stärke*, 73(5-6), 2000249. <https://doi.org/10.1002/star.202000249>

Liu, S., Wang, W., Lu, H., Shu, Q., Zhang, Y., & Chen, Q. (2022). New perspectives on physiological, biochemical and bioactive components during germination of edible seeds: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 123, 187–197.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.02.029>

Ma, X., Liu, Y., Liu, J., Zhang, J., & Liu, R. (2020). Changes in starch structures and in vitro digestion characteristics during maize (*Zea mays L.*) germination. *Food Science & Nutrition*, 8(3), 1700-1708. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1457>

Marti, A., Cardone, G., & Pagani, M. A. (2020). Sprouted cereal grains and products. *Innovative Processing Technologies for Healthy Grains* (pp. 113–141). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119470182.ch6>

Martincabrejas, M., Diaz, M., Aguilera, Y., Benitez, V., Molla, E., & Esteban, R. (2008). Influence of germination on the soluble carbohydrates and dietary fibre fractions in non-conventional legumes. *Food Chemistry*, 107(3), 1045–1052. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.09.020>

Martinez, M. M., Li, C., Okoniewska, M., Mukherjee, I., Vellucci, D., & Hamaker, B. (2018). Slowly digestible starch in fully gelatinized material is structurally driven by molecular size and A and B1 chain lengths. *Carbohydrate Polymers*, 197, 531–539. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.06.021>

Matilla, Angel. (2008). Desarrollo y germinación de las semillas. https://www.researchgate.net/profile/AngelMatilla/publication/271512205_Desarrollo_y_germinacion_de_las_semillas/links/54ca23f50cf2807dcc28a76e/Desarrollo-y-germinacion-de-las-semillas.pdf

Melesio-Cuéllar, J. L., Preciado Ortiz, R. E., Terrón Ibarra, A. D., Vázquez Carrillo, M. G., Herrera Macías, P., Amaya Guerra, C. A., & Serna Saldívar, S. O. (2008). Potencial productivo, propiedades físicas y valor nutrimental de híbridos de maíz de alta calidad proteínica. *Agricultura técnica en México*, 34(2), 225–233. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0568-25172008000200009

Method 32-41.01. Total dietary fiber in foods containing resistant maltodextrin. Approved August 2011. Available online only. AACCI: St. Paul, MN.

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>

Mohamed, M. A., Jaafar, J., Ismail, A. F., Othman, M. H. D., & Rahman, M. A. (2017). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. *Membrane Characterization* (pp. 3–29). <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63776-5.00001-2>

Morrison, J. (2021). Electronic structure of solids. *Modern Physics with Modern Computational Methods* (pp. 205–239). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817790-7.00016-0>

Nelson, K., Stojanovska, L., Vasiljevic, T., & Mathai, M. (2013). Germinated grains: a superior whole grain functional food?. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 91(6), 429–441. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2012-0351>

Nieves-Hernández, M. G., Correa-Piña, B. L., Esquivel-Fajardo, E. A., Barrón-García, O. Y., Gaytán-Martínez, M., & Rodriguez-Garcia, M. E. (2023). Study of morphological, structural, pasting, thermal, and vibrational changes in maize and isolated maize starch during germination. *Journal of Cereal Science*, 111(103685), 103685. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2023.103685>

Nonogaki, M., & Nonogaki, H. (2017). Germination. *Encyclopedia of Applied Plant Sciences* (pp. 509–512). <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-394807-6.00201-X>

Oseguera-Toledo, M. E., Contreras-Jiménez, B., Hernández-Becerra, E., & Rodriguez-Garcia, M. E. (2020). Physicochemical changes of starch during malting process of sorghum grain. *Journal of Cereal Science*, 95(103069), 103069. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2020.103069>

Öztürk, S., & Mutlu, S. (2019). Physicochemical properties, modifications, and applications of resistant starches. *Starches for Food Application* (pp. 297–332). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809440-2.00008-3>

Pallardy, D. R. S. G. (2008). PHYSIOLOGY OF WOODY PLANTS. <https://www.sciencedirect.com/book/9780120887651/physiology-of-woody-plants>

Rodriguez-Garcia, M. E., Hernandez-Landaverde, M. A., Delgado, J. M., Ramirez-Gutierrez, C. F., Ramirez-Cardona, M., Millan-Malo, B. M., & Londoño-Restrepo,

S. M. (2021). Crystalline structures of the main components of starch. *Current Opinion in Food Science*, 37, 107–111. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.10.002>

Rojas-Molina, I., Nieves-Hernandez, M. G., Gutierrez-Cortez, E., Barrón-García, O. Y., Gaytán-Martínez, M., & Rodriguez-Garcia, M. E. (2024). Physicochemical changes in starch during the conversion of corn to tortilla in the traditional nixtamalization process associated with RS2. *Food Chemistry*, 439, 138088. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.138088>

Salvi, P., Varshney, V., & Majee, M. (2022). Raffinose family oligosaccharides (RFOs): role in seed vigor and longevity. *Bioscience Reports*, 42(10), BSR20220198. <https://doi.org/10.1042/BSR20220198>

Sánchez-Linares, L., Gavilanes-Ruiz, M., Díaz-Pontones, D., Guzmán-Chávez, F., Calzada-Alejo, V., Zurita-Villegas, V., ... & Sánchez-Nieto, S. (2012). Early carbon mobilization and radicle protrusion in maize germination. *Journal of experimental botany*, 63(12), 4513-4526. <https://doi.org/10.1093/jxb/ers130>

Santiago-Ramos, D., Figueroa-Cárdenas, J. de D., Vélez-Medina, J. J., Mariscal-Moreno, R. M., Reynoso-Camacho, R., Ramos-Gómez, M., Gaytán-Martínez, M., & Morales-Sánchez, E. (2015). Resistant starch formation in tortillas from an ecological nixtamalization process. *Cereal chemistry*, 92(2), 185–192. <https://doi.org/10.1094/cchem-08-14-0170-r>

Saqib, A. A. N., & Whitney, P. J. (2011). Differential behaviour of the dinitrosalicylic acid (DNS) reagent towards mono- and di-saccharide sugars. *Biomass and Bioenergy*, 35, 4748–4750. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2011.09.013>

Schmiele, M., Sampaio, U. M., & Pedrosa Silva Clerici, M. T. (2019). Basic Principles. *Starches for Food Application* (pp. 1–22). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809440-2.00001-0>

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). (2017). Planeación Agrícola Nacional 2017 - 2030.

<https://www.gob.mx/agricultura/documentos/planeacion-agricola-nacional-2017-2030?state=published>

Segura-González, A. (2018). Elaboración de tortilla con maíz germinado.

<http://tesis.ipn.mx/handle/123456789/25207>

Serna-Saldívar, Sergio O., Gutiérrez-Uribe, Janet A., Mora-Rochin, Saraid, & García-Lara, Silverio. (2013). Potencial nutraceútico de los maíces criollos y cambios durante el procesamiento tradicional y con extrusión. *Revista fitotecnia mexicana*, 36(Supl. 3-a), 295-304. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802013000500006&lng=es&tlang=es

Serna-Saldívar, Sergio O., Gutiérrez-Uribe, Janet A., Mora-Rochin, Saraid, & García-Lara, Silverio. (2013). Potencial nutraceútico de los maíces criollos y cambios durante el procesamiento tradicional y con extrusión. *Revista fitotecnia mexicana*, 36(Supl. 3-a), 295-304.

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802013000500006&lng=es&tlang=es

Skendi, A., & Papageorgiou, M. (2019). Low glycemic index ingredients and modified starches in food products. *The Role of Alternative and Innovative Food Ingredients and Products in Consumer Wellness* (pp. 167–195). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816453-2.00006-1>

Srivastava, L. M. (2002). Seed germination, mobilization of food reserves, and seed dormancy. *Plant Growth and Development* (pp. 447–471).

<https://doi.org/10.1016/B978-012660570-9/50161-1>

Sthapit, B. R., & Witcombe, J. R. (1998). Inheritance of tolerance to chilling stress in rice during germination and plumule greening. *Crop Science*, 38(3), 660-665. <https://doi.org/10.2135/cropsci1998.0011183x003800030007x>

Sun, J., Wu, D., Xu, J., Rasmussen, S. K., & Shu, X. (2015). Characterisation of starch during germination and seedling development of a rice mutant with a high content

of resistant starch. *Journal of Cereal Science*, 62, 94-101.
<https://doi.org/10.1016/j.jcs.2015.01.002>

Tester, R. F., Karkalas, J., & Qi, X. (2004). Starch—composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science*, 39(2), 151–165.
<https://doi.org/10.1016/j.jcs.2003.12.001>

Tofiño, A. (2006). Regulación de la biosíntesis del almidón en plantas terrestres: perspectivas de modificación. *Acta Agronómica*, 55(1), 1–13. Recuperado a partir de https://revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/view/190

Tuan, P. A., Sun, M., Nguyen, T.-N., Park, S., & Ayele, B. T. (2019). Molecular mechanisms of seed germination. *Sprouted Grains* (pp. 1–24).
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811525-1.00001-4>

Wang, R., Li, M., Strappe, P., & Zhou, Z. (2021a). Preparation, structural characteristics and physiological property of resistant starch. *Advances in Food and Nutrition Research*, 95, 1–40. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2020.09.002>

Wang, S., Ren, F., Chao, C., & Liu, X. (2021b). Alterations of polysaccharides, starch gelatinization, and retrogradation. *Chemical Changes During Processing and Storage of Foods* (pp. 171–214). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817380-0.00005-1>

Wang, Z., Wang, S., Xu, Q., Kong, Q., Li, F., Lu, L., ... & Wei, Y. (2023c). Synthesis and Functions of Resistant Starch. *Advances in Nutrition*.
<https://doi.org/10.1016/j.advnut.2023.06.001>

Warren, F. J., Gidley, M. J., & Flanagan, B. M. (2016). Infrared spectroscopy as a tool to characterise starch ordered structure--a joint FTIR-ATR, NMR, XRD and DSC study. *Carbohydrate Polymers*, 139, 35–42.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.11.066>

Wu, F., Chen, H., Yang, N., Wang, J., Duan, X., Jin, Z., & Xu, X. (2013). Effect of germination time on physicochemical properties of brown rice flour and starch from different rice cultivars. *Journal of Cereal Science*, 58(2), 263–271. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2013.06.008>

Xu, J., Zhang, H., Guo, X., & Qian, H. (2012). The impact of germination on the characteristics of brown rice flour and starch. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(2), 380–387. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4588>

Yu, X., Houtman, C., & Atalla, R. H. (1996). The complex of amylose and iodine. *Carbohydrate Research*, 292, 129-141. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)90928-5](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)90928-5)

Zhou, K., Slavin, M., Lutterodt, H., Whent, M., Eskin, N. A. M., & Yu, L. (2013). Cereals and Legumes. *Biochemistry of Foods* (pp. 3–48). <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-091809-9.00001-7>

Zhu, F., Xie, Q. (2018). Structure and Physicochemical Properties of Starch. In: Sui, Z., Kong, X. (eds) *Physical Modifications of Starch*. https://doi.org/10.1007/978-981-13-0725-6_1