

# PHYSICOCHEMICAL, FUNCTIONAL, THERMAL AND RHEOLOGICAL CHARACTERIZATION OF STARCH FROM HUAUZONTLE SEEDS (*Chenopodium berlandieri* spp. *nuttalliae*)

## CARACTERIZACIÓN REOLÓGICA, TÉRMICA, FUNCIONAL Y FISICOQUÍMICA DEL ALMIDÓN DE SEMILLAS DE HUAUZONTLE (*Chenopodium berlandieri* spp. *nuttalliae*)

Melissa Assad-Bustillos<sup>1,2</sup>, Mariana Ramírez-Gilly<sup>1</sup>, Alberto Tecante<sup>1</sup>, Leandro Chaires-Martínez<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Alimentos y Biotecnología, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México. 04510. Ciudad Universitaria. D.F. México. <sup>2</sup>AgroParis Tech-Centre de Massy, 1 avenue des Olympiades. 91744. Massy, France. <sup>3</sup>Centro de Investigación en Alimentos. Instituto Tecnológico Superior de Álamo Temapache. 92750. Carretera Potrero del Llano-Tuxpan, km 6.5 Álamo, Veracruz, Mexico. (leandrochaires@yahoo.com.mx).

### ABSTRACT

Huauzontle seeds (*Chenopodium berlandieri* spp. *nuttalliae*) are produced in the central part of Mexico but their use is limited to seedling process. Thus, in order to diversify their applications it is necessary to study their components such as proteins and starch. Therefore, the objective of this study was to extract and characterize the starch contained in the seeds of huauzontle by means of chemical and physical techniques. Analysis of the results showed 50 % extraction yield, 72.5 % starch purity, 5.32 % moisture, 1.09 % ash, 0.083 % fat, 11.4 % total nitrogen, and 4.13 % crude fiber. The amylose content was 10.5 %, which suggests that huauzontle starch gels could have a low tendency to retrograde. Swelling and solubility were similar to reported values for corn, lower than potato and higher than quinoa starches. The peak temperature of gelatinization was 68 °C. Pastes with 4 and 8 % (w/v) starch exhibited solid-like behavior attributable to amylose gelation with clear differences in dynamic moduli values and dependence with angular frequency when starch concentration increased. Non-Newtonian, shear-thinning behaviors with some degree of thixotropy that disappeared upon continuous shearing were observed. Laser diffraction data and SEM observations revealed association of very small (0.5–1.0  $\mu\text{m}$ ) starch granules into larger particles.

**Key-words:** *Chenopodium berlandieri*, rheology, starch, viscoelasticity, microscopic structure.

### ABSTRACT

Las semillas de huauzontle (*Chenopodium berlandieri* spp. *nuttalliae*) se producen en la parte central de México pero su uso se limita al proceso de producción de plántulas. Así, con el fin de diversificar sus aplicaciones es necesario estudiar sus componentes, como las proteínas y el almidón. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue extraer y caracterizar el almidón contenido en las semillas de huauzontle mediante técnicas químicas y físicas. El análisis de los resultados mostró 50 % de rendimiento de extracción, 72.5 % de pureza de almidón, 5.32 % de humedad, 1.09 % de cenizas, 0.083 % de grasa, 11.4 % de nitrógeno total y 4.13% de fibra cruda. El contenido de amilosa fue 10.5 %, lo cual sugiere que los geles del almidón de huauzontle podrían tener una tendencia baja a retrogradar. El hinchamiento y solubilidad fueron similares a los valores reportados para el maíz, menores que para papa y mayores que los almidones de quinua. La temperatura máxima de gelatinización fue 68 °C. Las pastas con 4 y 8 % (p/v) de almidón exhibieron un comportamiento semisólido atribuible a la gelificación de la amilosa con claras diferencias en los valores de módulos dinámicos y dependencia con frecuencia angular cuando aumentó la concentración de almidón. Hubo comportamientos pseudoplásticos no Newtonianos con cierto grado de tixotropía que desaparecieron tras continuo cizallamiento. Los datos de difracción laser y observaciones MEB revelaron una asociación de gránulos de almidón muy pequeños (0.5-1.0  $\mu\text{m}$ ) en partículas más grandes.

\*Author for correspondence ♦ Autor responsable.

Received: May, 2014. Approved: October, 2014.

Published as ARTICLE in Agrociencia 48: 789-803. 2014.

**Palabras clave:** *Chenopodium berlandieri*, reología, almidón, viscoelasticidad, estructura microscópica.

## INTRODUCTION

The pseudocereal huauzontle (*Chenopodium berlandieri* spp. *nuttalliae*) is commercialized as a broccoli-like vegetable in several states of central México, and represents an alternative for profitable purposes (Partap *et al.*, 1998). The main producing zones of huauzontle are in the state of Puebla, with approximately 3100 t year<sup>-1</sup> (SAGARPA, 2013). The edible part of the plant is the inflorescence but its seeds, which are used only for seedling process, present functional properties for the food industry due to the presence of antioxidants, proteins and starch, as it is the case of other pseudocereals (Aghamirzaei *et al.*, 2013; Chaires *et al.*, 2013). Therefore, in order to diversify the food applications of all of the huauzontle plant, it is necessary to characterize their components and to encourage their cultivation and use as an alternative to cereals. The fact that huauzontle starch can be extracted makes it available for food applications; however, its industrial potential remains untapped and it is important to understand the structural characteristics of starches in order to suggest further applications.

Starch is organized in discrete granules in most vegetable tissues, but it is particularly abundant in storage organs including roots/tubers, stems, seeds/grains and fruits (Copeland *et al.*, 2009). The complexity of starch biosynthesis produces variability in amylose and amylopectin molecules, which is reflected in the diversity of granule morphology. Variability in granule size and shape is associated with differences in functional properties such as gelatinization, retrogradation, solubility, swelling power, water-binding capacity, rheological behavior and pasting properties (Wang *et al.*, 2010). For this reason, the tendency is to look for alternative sources to obtain starches exhibiting novel physicochemical and functional characteristics (Nwokocha and Williams, 2009). There are basic investigations on the properties of starch contained in pseudocereals plants like buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) (Steadman *et al.*, 2001), quinoa (*Chenopodium quinoa*) (Chauhan *et al.*, 1992) and amaranth (*Amaranthus* spp.) (Calzetta *et al.*, 2000), but none on the Mexican pseudocereal huauzontle. Thus, the objective of the present study was to evaluate swelling and solubility behavior, amylose content, gelatinization, morphology,

## INTRODUCCIÓN

El pseudocereal huauzontle (*Chenopodium berlandieri* spp. *nuttalliae*) se comercializa como una verdura del tipo del brócoli en varios estados del centro de México, y representa una alternativa con fines lucrativos (Partap *et al.*, 1998). Las principales zonas productoras de huauzontle están en el estado de Puebla, con aproximadamente 3100 t año<sup>-1</sup> (SAGARPA, 2013). La parte comestible de la planta es la inflorescencia pero sus semillas, que se usan sólo para la producción de plántulas, presentan propiedades funcionales para la industria alimentaria debido a la presencia de antioxidantes, proteínas y almidón, como en otros pseudocereales (Aghamirzaei *et al.*, 2013; Chaires *et al.*, 2013). Por lo tanto, con el fin de diversificar las aplicaciones de toda la planta de huauzontle en el área de alimentos, es necesario caracterizar sus componentes y fomentar su cultivo y uso como una alternativa a los cereales. El hecho de que el almidón del huauzontle pueda extraerse lo hace disponible para aplicaciones alimentarias; sin embargo, su potencial industrial permanece sin aprovechar y es importante entender las características estructurales de los almidones para sugerir más aplicaciones.

El almidón está organizado en gránulos discretos en la mayoría de los tejidos vegetales, pero es muy abundante en los órganos de almacenamiento, incluyendo raíces/tubérculos, tallos, semillas/granos y frutos (Copeland *et al.*, 2009). La complejidad de la biosíntesis del almidón produce variabilidad en las moléculas de amilosa y amilopectina, que se refleja en la diversidad de morfología del gránulo. La variabilidad en el tamaño y la forma del gránulo están asociados con diferencias en las propiedades funcionales, como gelatinización, retrogradación, solubilidad, capacidad de hinchamiento y de retención de agua, comportamiento reológico y propiedades de pegado (Wang *et al.*, 2010). Por esta razón, la tendencia es buscar fuentes alternativas para obtener almidones con características funcionales fisicoquímicas novedosas (Nwokocha y Williams, 2009). Hay investigaciones básicas sobre las propiedades del almidón contenidas en plantas pseudocereales como trigo sarraceno (*Fagopyrum esculentum*) (Steadman *et al.*, 2001), quinua (*Chenopodium quinoa*) (Chauhan *et al.*, 1992) y amaranto (*Amaranthus* spp.) (Calzetta *et al.*, 2000), pero ninguno en el

particle size and rheological behavior of huauzontle seed starch.

## MATERIALS AND METHODS

### Starch extraction

The raw mature seeds were collected from huauzontle crops from Cholula, Puebla, Mexico. Cholula has a temperate climate with an average temperature between 18-20 °C, and the rainy season from May to October provides 800 to 900 mm of rainfall per year. The soils of the region are predominantly Feozem type (INEGI, 2014).

The seeds were cleaned manually to remove foreign objects. Starch was isolated according to Lindeboom *et al.* (2005) and air-dried at 38 °C in a convection oven (Thermal Control, Genlab, Widnes, England).

### Chemical analysis

The starch moisture, ash, total nitrogen (protein content calculated as nitrogen  $\times 6.25$ ), crude fat, crude fiber and carbohydrates were determined according to AOAC (1990) methods. Reducing sugars were determined by the dinitrosalicylic acid (DNS) method (Bernfeld, 1951).

### Starch and amylose

Starch was determined by an enzymatic method using a Starch Assay Kit (Sigma-Aldrich, USA) based on the hydrolysis of starch to glucose catalyzed by  $\alpha$ -amylase and amyloglucosidase (Sigma-Aldrich, 2014). Amylose content was analyzed using an Amylose/Amylopectin Assay Kit (Megazyme, Ireland) based on the concanavalin A method (Yun and Matheson, 1990).

### Swelling power and solubility

Starch paste was prepared at 4 % (w/v) by using a thermostatic bath (Polystat mod. 12101-50, Cole Parmer, USA) with a gradual heating program ( $1.5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ ) from 25 to 90 °C under constant stirring. The paste was kept at 90 °C for 10 min. Determinations were carried out as described by Leach *et al.* (1959).

### Gelatinization and rheological behavior

The gelatinization properties of starch were determined using differential scanning micro-calorimetry (Micro-DSC 7-evo, Setaram Instruments, Caluire, France). Starch dispersions

pseudocereal mexicano huauzontle. Así, el objetivo del presente estudio fue evaluar el comportamiento de hinchamiento y solubilidad, contenido de amiloza, gelatinización, morfología, tamaño de las partículas y comportamiento reológico del almidón de la semilla de huauzontle.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Extracción del almidón

Las semillas maduras fueron obtenidas de cultivos de huauzontle de Cholula, Puebla, México. Cholula tiene un clima templado con una temperatura promedio de 18 a 20 °C, y la época de lluvias de mayo a octubre proporciona 800 a 900 mm de lluvia por año. Los suelos de la región son predominantemente de tipo Feozem (INEGI, 2014).

Las semillas se limpiaron manualmente para quitar objetos extraños. El almidón se aisló de acuerdo con Lindeboom *et al.* (2005) y se secó a 38 °C en un horno de convección (Control Térmico, Genlab, Widnes, Inglaterra).

### Análisis químico

La humedad del almidón, cenizas, nitrógeno total (contenido de proteínas calculado como nitrógeno  $\times 6.25$ ), grasa cruda, fibra cruda y carbohidratos se determinaron según los métodos AOAC (1990). Los azúcares reductores se determinaron por el método del ácido dinitrosalicílico (DNS) (Bernfeld, 1951).

### Almidón y amilosa

El almidón se determinó con un método enzimático usando un kit Starch Assay (Sigma-Aldrich, EE.UU.), basado en la hidrólisis de almidón a glucosa catalizada por  $\alpha$ -amilasa y amiloglucosidasa (Sigma-Aldrich, 2014). El contenido de amiloza se analizó con un kit Amilose/Amylopectin Assay (Megazyme, Ireland) basado en el método de concanavalina A (Yun y Matheson, 1990).

### Poder de hinchamiento y solubilidad

La pasta de almidón se preparó a 4 % (p/v) usando un baño termostático (Polystat mod. 12101-50, Cole Parmer, EE.UU.) con un programa de calentamiento gradual ( $1.5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ ) de 25 a 90 °C con agitación constante. La pasta se mantuvo 10 min a 90 °C. Las determinaciones se realizaron según Leach *et al.* (1959).

at 4 % (w/v) were placed in the sample cell. The samples were heated from 25 to 90 °C at a rate of 1.2 °C min<sup>-1</sup>. Once the samples reached 90 °C they were maintained 10 min and then cooled to 25 °C at rate of 1.2 °C min<sup>-1</sup>. Onset ( $T_{onset}$ ) and peak ( $T_{peak}$ ) temperatures, and enthalpy of gelatinization ( $\Delta H$ ) were determined. The rheological properties were analyzed for 4 and 8 % (w/v) starch pastes. The starch dispersions were heated in sealed tubes immersed in a water bath maintained at 99 °C for 30 min. The samples were agitated 3 min until pasting occurred. The pastes were removed and left at 25 °C and 1 h later the rheological properties were evaluated. Rheological measurements were carried out in a rheometer (Ares® RFS III™, TA Instruments, USA) with serrated parallel plates geometry (25 mm in diameter and 1 mm gap). The storage modulus ( $G'$ ) and loss modulus ( $G''$ ) of the starch pastes were determined by small deformation oscillatory measurements in the zone of linear viscoelasticity, previously determined from strain sweep tests carried out at 25 °C and 6.28 rad s<sup>-1</sup>. The variation of shear stress with shear rate was examined at 25 °C within a 0-140 s<sup>-1</sup> range. Two consecutive up and down shear rate loops, 6 min up and 6 min down, for each loop were carried out.

#### **Particle size and distribution and starch morphology**

Particle size and particle size distribution of the starch granules were measured by laser light scattering (Mastersizer 2000, Malvern Instruments®, UK) for 4 and 8 % (w/v) pastes. A polydisperse mode of analysis and a 300 mm lens were used. The starch was evenly dispersed in deionized water with magnetic agitation to attain an obscuration of 20-30 %. The particle size distribution was determined in triplicate, and the results were expressed as volume (%) occupied by starch granules (Tecante and Doublier, 1999). Granule micrographs were obtained with a JSM 35 Genie Scanning Electron Microscope (SEM). The starch was sprinkled onto a double-backed adhesive carbon tab stuck to a circular aluminum stub. The aluminum stub with the starch sample on it was placed in the vacuum chamber of a Polaron PS 3 sputter coater, after attaining a vacuum of 0.1-0.2 Torr and plasma current of 42 mA; the gold coating process was carried out for 140 s. The stub with gold-coated starch was then placed in the SEM chamber which was evacuated before the electron beam was turned on. A 10 kV/2.05 setting was used for the subsequent imaging on starch, and the aperture size was fixed at 3.

#### **Statistical analysis**

To verify the statistical significance between three measurements of each variable, means and standard deviation were determined (Fry, 1996).

#### **Gelatinización y comportamiento reológico**

Las propiedades de gelatinización de almidón se determinaron usando micro-calorimetría de barrido diferencial (Micro-DSC 7-evo, Setaram Instruments, Caluire, Francia). Dispersiones de almidón a 4 % (p/v) se colocaron en la celda de muestra. Las muestras se calentaron de 25 a 90 °C a razón de 1.2 °C min<sup>-1</sup>. Cuando las muestras alcanzaron 90 °C se mantuvieron 10 min y se enfriaron a 25 °C a razón de 1.2 °C min<sup>-1</sup>. Se determinaron las temperaturas de inicio ( $T_{onset}$ ) las temperaturas máximas ( $T_{peak}$ ) y la entalpía de gelatinización ( $\Delta H$ ). Las propiedades reológicas se analizaron en pastas de almidón al 4 y 8 % (p/v). Las dispersiones de almidón se calentaron en tubos sellados inmersos en un baño de agua mantenido 30 min a 99 °C. Las muestras se agitaron 3 min hasta producir la pasta. Las pastas se retiraron y dejaron a 25 °C y 1 h después se evaluaron las propiedades reológicas. Las mediciones reológicas se realizaron en un reómetro (Ares® RFS III™, TA Instruments, EE.UU.) con una geometría de placas paralelas dentada (25 mm de diámetro y 1 mm de separación). El módulo de almacenamiento ( $G'$ ) y el módulo de pérdida ( $G''$ ) de las pastas de almidón se determinaron por mediciones oscillatorias de pequeña deformación en la zona de viscoelasticidad lineal, previamente determinada desde pruebas de barrido de deformación realizado a 25 °C y 6.28 rad s<sup>-1</sup>. La variación del esfuerzo de corte con la velocidad de cizalla se examinó a 25 °C dentro de un rango de 0-140 s<sup>-1</sup>. Dos vueltas consecutivas de velocidad de cizalla cortante arriba y abajo, 6 min arriba y 6 min abajo, se realizaron para cada vuelta.

#### **Tamaño y distribución de partícula y morfología del almidón**

El tamaño de partícula y la distribución del tamaño de partícula de los gránulos de almidón se midieron por medio de dispersión de luz láser (Mastersizer 2000, Malvern Instruments®, RU) para pastas al 4 y 8 % (p/v). Un modo poli-disperso de análisis y una lente de 300 mm fue usado. El almidón se dispersó uniformemente en agua desionizada con agitación magnética para lograr un oscurecimiento de 20 a 30 %. La distribución del tamaño de partícula se determinó por triplicado y los resultados se expresaron como volumen (%) ocupado por gránulos de almidón (Tecante y Doublier, 1999). Micrografías de gránulos se obtuvieron con un Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) Genie JSM 35. El almidón fue esparcido sobre una pestaña adhesiva de carbono de doble respaldo pegada a un trozo circular de aluminio. El trozo de aluminio con la muestra de almidón se colocó en la cámara de vacío de un revestidor Polaron PS 3 por bombardeo iónico, después de alcanzar un vacío de 0.1-0.2 Torr

## RESULTS AND DISCUSSION

### Chemical analysis and functional characteristics

Partial chemical composition and functional characteristics of starch are shown in Table 1. The starch yield of the huauzontle seeds ( $50 \pm 1.4\%$ ) was close to *Chenopodium quinoa* (Chauhan *et al.*, 1992), amaranth (Souci *et al.*, 2000), and corn (*Zea mays*) (Ji *et al.*, 2004); but lower than wheat (*Triticum spp.*) (Aguilar and Eckhoff, 2007) starches. Variability in yield values may have been affected by the structure of the source and the method used for extraction (Nwokocha and Williams, 2009). The moisture content ( $5.32 \pm 0.2\%$ ) was low and within the acceptable range for marketing and storage (Wolfgang *et al.*, 1999). Differences in starch moisture from several samples could be attributed to differences in drying and storage environment (Soni *et al.*, 1993). The ash ( $1.09 \pm 0.1\%$ ) and fat ( $0.083 \pm 0.2\%$ ) content were slightly higher than quinoa and amaranth, but close to corn and wheat samples. The shelf life of flours depends largely on the fat content; thus, the lower the fat content the highest starch shelf life (Skrabanja *et al.*, 2004).

Huauzontle seed starch had higher in protein content ( $11.4 \pm 0.4\%$ ) than the values reported by Clerici *et al.* (2011) for *Solanum lycocarpum* (6.27%) and Stevenson *et al.* (2006) 6.7% for corn. Besides

y corriente de plasma de 42 mA; el proceso de recubrimiento de oro se realizó por 140 s. El trozo con el almidón recubierto de oro se colocó en la cámara MEB que fue vaciada antes de encender el haz de electrones. Una configuración de 10 kV/2.05 se usó para la posterior formación de imágenes en el almidón, y el tamaño de la abertura se fijó en 3.

### Análisis estadístico

Para verificar la significación estadística entre tres mediciones de cada variable, se determinaron las medias y la desviación estándar (Fry, 1996).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Análisis químico y características funcionales

La composición química parcial y las características funcionales del almidón se presentan en el Cuadro 1. El rendimiento de almidón de semillas de huauzontle ( $50 \pm 1.4\%$ ) estuvo cerca de *Chenopodium quinoa* (Chauhan *et al.*, 1992), amaranto (Souci *et al.*, 2000), y maíz (*Zea mays*) (Ji *et al.*, 2004); pero fue menor al de almidones del trigo (*Triticum spp.*) (Aguilar y Eckhoff, 2007). La variabilidad en los valores de rendimiento pudo ser afectada por la estructura de la fuente y el método usado para la extracción (Nwokocha y Williams, 2009). El contenido de humedad ( $5.32 \pm 0.2\%$ ) fue bajo y dentro del rango aceptable para comercialización

**Table 1. Results from chemical analysis and functional properties of huauzontle seed starch in comparison with quinoa, amaranth, corn and wheat starches.**

**Cuadro 1. Resultados de los análisis químicos y propiedades funcionales del almidón de la semilla de huauzontle en comparación con los almidones de quinua, amaranto, maíz y trigo.**

Variable/sample	Huauzontle <sup>†</sup>	Quinoa <sup>¶</sup>	Amaranth <sup>§</sup>	Corn <sup>¶</sup>	Wheat <sup>¶</sup>
Yield (% d.b.)	50	52.2-69.2	55-60	45-63.8	67
Moisture (% d.b.)	5.32	6-8	11.6-13.9	11.9	12.2
Ash (% d.b.)	1.09	0.21	3.4	0.07	0.2
Fat (% d.b.)	0.083	0.01	0	0.68	1.2
Protein (% d.b.)	11.4	0.1-1.2	0.43	0.5	0.35
Amylose (%)	10.5	7-20	4.7-12.5	28	26
Solubility (%)	25.4	6-7	9.1-20	25	41
Swelling (g/g)	23.3	8.54-53.8	16.3-30.2	13.7-20.7	21

<sup>†</sup>This study. <sup>¶</sup>Araujo-Farro *et al.* (2010); Lindeboom *et al.* (2005). <sup>§</sup>Calzetta-Resio *et al.* (2000); Kong *et al.* (2009). <sup>¶</sup>Blaszcak *et al.* (2003); FAO (1998). <sup>¶</sup>Pomeranz (1991); Gomes *et al.* (2009) <sup>¶</sup>Este estudio. <sup>¶</sup>Araujo-Farro *et al.* (2010); Lindeboom *et al.* (2005). <sup>¶</sup>Calzetta-Resio *et al.* (2000); Kong *et al.* (2009). <sup>¶</sup>Bkaszczak *et al.* (2003); FAO (1998), <sup>¶</sup>Pomeranz (1991); Gomes *et al.* (2009).

starch, protein content would be responsible for the textural characteristics of future huauzontle products, as was described for buckwheat and other grains (Skrabanja *et al.*, 2004). Therefore, choosing the appropriate ratio between starch and protein content is important for designing and manufacturing products.

The presence of protein in huauzontle seed starch could be ascribed to non-separating protein from the matrix where the starch is embedded inside the grain (Ruales and Nair, 1994). By definition, starch granule-associated proteins are the proteins naturally positioned in and on starch granules. They are different from storage proteins and are bound tightly on the surface or as integrated constituents within the granule structure, or both (Baldwin, 2001). Some authors have tried to separate the soluble and insoluble fractions of protein from the starch-milk of amaranth and other sources. For example, Middlewood and Carson (2012) reported 32 % protein content from the starch-milk composition, and using microfiltration they obtained a starch-rich concentrate with low protein content.

Total carbohydrates,  $82.1 \pm 0.4\%$ , which include reducing sugars,  $1.0 \pm 0.1\%$ , and crude fiber,  $4.13 \pm 0.1\%$ , were found in huauzontle seed starch. The isolated starch purity was 72.5 %, which is high as compared to 56–59 % of *Pachyrhizus ahipa* varieties and to 87 % of red sweet potato (*Ipomoea batatas*) (Osundahunsi *et al.*, 2003; Torruco-Uco and Betancur-Ancona, 2007). The amylose composition was 10.5 %, which is close to amaranth species (Kong *et al.* 2009) and quinoa starch (Lorenz 1990), but amylose content of starches from rice (*Oryza sativa*) cultivars ranges from 18.1 to 31.6 % (Wang *et al.*, 2010). The amylose/amyllopectin ratio for huauzontle seed starch ( $10.5/89.5 \pm 0.29$ ) was 0.117 and this starch could form gels with a low tendency to retrograde (Beynum and Roels, 1985). This result differs from corn starches (0.394) and red sweet potato (0.519) (Osundahunsi *et al.*, 2003; Charles *et al.*, 2005); besides, the amylose to amyllopectin ratio of potatoes (*Solanum tuberosum*) starches ranges from 1:2.96 (Mayan Gold) to 1:2.44 (Brodick) (Alvani *et al.*, 2001), which reflects the spread in amylose content (Yusuph *et al.*, 2003). Variability between samples and species can be affected by botanical sources, climatic conditions and types of soil during

y almacenamiento (Wolfgang *et al.*, 1999). Las diferencias en la humedad del almidón de varias muestras se pueden atribuir a las diferencias en el secado y el ambiente de almacenamiento (Soni *et al.*, 1993). El contenido de ceniza ( $1.09 \pm 0.1\%$ ) y grasa ( $0.083 \pm 0.2\%$ ) fue ligeramente superior al de quinua y amaranto, pero cercano a las muestras de maíz y trigo. La vida útil de las harinas depende principalmente del contenido de grasa; así, con un menor contenido de grasa más larga es la vida útil del almidón (Skrabanja *et al.*, 2004).

El almidón de la semilla de huauzontle tuvo más proteínas ( $11.4 \pm 0.4\%$ ) que los valores reportados por Clerici *et al.* (2011) para *Solanum lycocarpum* (6.27 %) y Stevenson *et al.* (2006) 6.7 % para maíz. Además del almidón, el contenido de proteína será responsable de las características de textura de los futuros productos de huauzontle como se describió para el trigo sarraceno y otros granos (Skrabanja *et al.*, 2004). Por lo tanto, seleccionar la relación apropiada entre contenido de almidón y proteína es importante para diseñar y manufacturar productos.

La presencia de proteína en el almidón de la semilla de huauzontle podría atribuirse a la proteína no separada de la matriz donde el almidón está incrustado dentro del grano (Ruales y Nair, 1994). Por definición, las proteínas asociadas al granulo de almidón son las proteínas naturalmente posicionadas dentro y sobre los gránulos de almidón. Son diferentes de las proteínas de almacenamiento y están unidas estrechamente sobre la superficie o como constituyentes integrados dentro de la estructura del gránulo, o ambas (Baldwin, 2001). Algunos autores han tratado de separar las fracciones solubles e insolubles de proteína de la leche de almidón de amaranto y otras fuentes. Por ejemplo, Middlewood y Carson (2012) reportaron 32 % de contenido de proteína de la composición de leche de almidón, y usando microfiltración obtuvieron un concentrado rico en almidón y bajo en proteína.

En el almidón de semillas de huauzontle se encontraron  $82.1 \pm 0.4\%$  de carbohidratos totales que incluían  $1.0 \pm 0.1\%$  de azúcares reductores, y  $4.13 \pm 0.1\%$  de fibra cruda. La pureza del almidón aislado fue 72.5 %, la cual es alta comparada al 56–59 % de variedades *Pachyrhizus ahipa* y 87 % del camote rojo (*Ipomoea batatas*) (Osundahunsi *et al.*, 2003; Torruco-Uco y Betancur-Ancona, 2007). La

cultivation, as well as by harvest time (Noda *et al.*, 2004).

Swelling and solubility patterns provide information about the nature of the associative bonding within the starch granule. The ratio of amylose and amylopectin in the starch granule and the manner in which they are arranged inside affect swelling and solubility of the starch (Beleia *et al.*, 1980). The solubility of starch is dominated by the amylose content and amylopectin mainly influences the starch swelling power (Tester and Morrison, 1990). Starches such as quinoa, amaranth and huauzontle have reduced proportions of amylose and show low solubility when heated in excess water (Ahamed *et al.*, 1996). For sources such as potato, 100 % solubility (Pomeranz, 1991) is associated with the easy bonding of water molecules to the free hydroxyl groups of amylose and amylopectin by hydrogen bonds, which could increase the absorption capacity and solubility (Singh *et al.*, 1994; Ahamed *et al.*, 1996). According to Kong *et al.* (2009), there was no correlation between amylose content and swelling power, but the correlation was negative with solubility index, as compared to several amaranth genotypes with 4.7 to 12.5 % amylose. For huauzontle seed starch, the results of amylose content, swelling power and solubility agree with values for K350 and R159 (*Amaranthus cruentus* L. from US) samples reported by Kong *et al.* (2009). Huauzontle seed starch swelling values ( $23.3 \pm 1.37 \text{ g g}^{-1}$ ) are close to quinoa (Lindeboom *et al.*, 2005) and corn (Sandhu and Singh, 2007), but different from potato starches ( $36.5\text{-}40.5 \text{ g g}^{-1}$ ) (Singh *et al.*, 2006). Low swelling power of starches as in huauzontle seed starch may be attributed to the presence of a large number of crystal regions formed through the association between long amylopectin chains (Jiang *et al.*, 2012). In pearl millet (*Pennisetum glaucum*) starches, values obtained for huauzontle seed starch can be considered as highly restricted as swelling power was below  $16 \text{ g g}^{-1}$ . Starches showing restricted swelling behavior are relatively stable against shearing action during cooking in water (Galvez and Resurreccion, 1992). Solubility of starch is an indicator of the degree of starch granules dispersion after cooking. The solubility could imply the amount of amylose leaching out from starch granule when swelling; therefore, the higher the solubility the higher will be the amylose leaching (Srichuwong *et al.*, 2005).

composición de amilosa fue 10.5 % que está cerca a la de especies de amaranto (Kong *et al.*, 2009) y de almidón de quinua (Lorenz 1990), pero el contenido de amilosa de almidones de cultivares de arroz (*Oryza sativa*) varía de 18.1 a 31.6 % (Wang *et al.*, 2010). La relación amilosa/amilopectina en el almidón de semillas de huauzontle ( $10.5/89.5 \pm 0.29$ ) fue 0.117 y este almidón podría formar geles con baja tendencia a retrogradar (Beynum y Roels, 1985). Este resultado difiere de los almidones de maíz (0.394) y camote rojo (0.519) (Osundahunsi *et al.*, 2003; Charles *et al.*, 2005); además la proporción de amilosa a amilopectina de almidones de papa (*Solanum tuberosum*) varía de 1:2.96 (Mayan Gold) a 1:2.44 (Brodick) (Alvani *et al.*, 2001), lo que refleja la dispersión en el contenido de amilosa (Yusuph *et al.*, 2003). La variabilidad entre muestras y especies puede ser afectada por fuentes botánicas, condiciones climáticas y tipos de suelo durante el cultivo, así como por el tiempo de cosecha (Noda *et al.*, 2004).

Los patrones de hinchamiento y solubilidad proporcionan información acerca de la naturaleza del enlace asociativo dentro del gránulo de almidón. La relación amilosa/amilopectina en el gránulo de almidón y la manera en que se disponen en el interior afecta el hinchamiento y solubilidad del almidón (Beleia *et al.*, 1980). La solubilidad del almidón está dominada por el contenido de amilosa y la amilopectina influye principalmente en la potencia de hinchamiento del almidón (Tester y Morrison, 1990). Los almidones como los de la quinua, del amaranto y huauzontle tienen reducida proporción de amilosa y muestran baja solubilidad cuando se calientan en exceso de agua (Ahamed *et al.*, 1996). Para fuentes, como la papa, 100 % de solubilidad (Pomeranz, 1991) está asociada con la unión fácil de moléculas de agua a los grupos hidroxilo libres de amilosa y amilopectina por enlaces de hidrógeno, que podrían aumentar la capacidad de absorción y solubilidad (Singh *et al.*, 1994; Ahamed *et al.*, 1996). Según Kong *et al.* (2009), no hubo correlación entre contenido de amilosa y poder de hinchamiento, pero la correlación fue negativa con el índice de solubilidad, comparado con varios genotipos de amaranto con 4.7 a 12.5 % de amilosa. Para el almidón de semillas de huauzontle, los resultados de contenido de amilosa, poder de hinchamiento y solubilidad concuerdan con los valores de las muestras K350 y R159 (*Amaranthus cruentus*

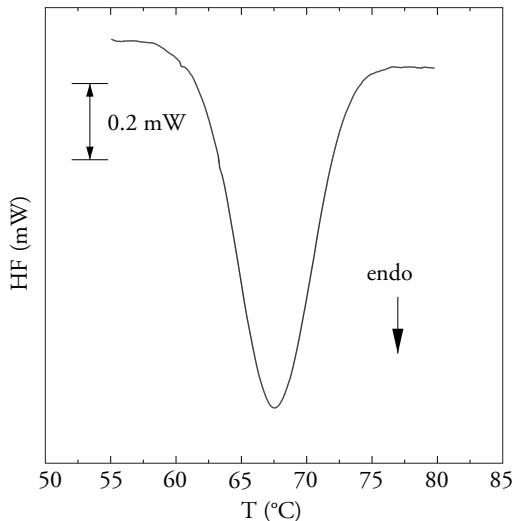
## Gelatinization properties

A typical DSC thermogram for a 4 % (w/v) dispersion of the huauzontle seed starch is shown in Figure 1. The DSC curve shows an endothermic peak which is attributed to the gelatinization process. The  $T_{\text{peak}}$  for huauzontle seed starch was  $68.4 \pm 0.57$  °C. The  $T_{\text{onset}}$  was  $63.2 \pm 0.64$  °C. For other pseudocereals, quinoa starch gelatinizes at a relatively low temperature (54.2-61.9 °C), which is similar to the  $T_{\text{peak}}$  of wheat and potato starch, but lower than for corn starch. Kong *et al.* (2009) found a wide range of variations in thermal parameters among 15 cultivars of amaranth: the highest  $T_{\text{peak}}$  (77.8 °C) was for cultivar K350 and the lowest (68.8 °C) for cultivar NO1 (*Amaranthus hypochondriacus*). The difference in  $T_{\text{peak}}$  among starches is attributed to the interplay of three factors: starch composition, molecular structure of the amylopectin and granule architecture.

The  $\Delta H$  of huauzontle seed starch was  $10.5 \pm 0.54$  J g<sup>-1</sup>. Quinoa starch has a  $\Delta H$  of 7.3-10.5 J g<sup>-1</sup> (Inouchi *et al.*, 1999), amaranth starch 15.0 to 18.4 J g<sup>-1</sup> (Kong *et al.*, 2009), corn starch 17.2-20.5 J g<sup>-1</sup>, wheat starch 12.1 J g<sup>-1</sup>, rice starch 14.2-16.3 J g<sup>-1</sup> and potato starch 18.8 J g<sup>-1</sup> (Zobel, 1984). The  $\Delta H$  gives an overall measure of crystallinity (quality and quantity), and is regarded as an indicator of the loss

L. de EE.UU.) reportadas por Kong *et al.* (2009). Los valores de hinchamiento del almidón de la semilla del huauzontle ( $23.3 \pm 1.37$  g g<sup>-1</sup>) están cerca de la quinua (Lindeboom *et al.*, 2005) y del maíz (Sandhu y Singh, 2007), pero diferentes de los almidones de papa ( $36.5$ - $40.5$  g g<sup>-1</sup>) (Singh *et al.*, 2006). La capacidad baja de hinchamiento de los almidones como en el almidón de semilla de huauzontle puede atribuirse a la presencia de un gran número de regiones cristalinas formadas a través de la asociación entre las cadenas largas de amilopectina (Jiang *et al.*, 2012). Como en los almidones del mijo perla (*Pennisetum glaucum*), los valores obtenidos del almidón de la semilla de huauzontle pueden considerarse como altamente restringidos ya que la capacidad de hinchamiento era menor a  $16$  g g<sup>-1</sup>. Los almidones que presentan un comportamiento restringido de hinchamiento son relativamente estables frente a la acción de cizallamiento durante la cocción en agua (Gálvez y Resurrección, 1992). La solubilidad del almidón es un indicador del grado de dispersión de los gránulos de almidón después de la cocción. La solubilidad podría implicar la cantidad de amilosa filtrándose del gránulo de almidón cuando se hincha; por lo tanto, mientras mayor es la solubilidad mayor será la lixiviación de amilosa (Srichuwong *et al.*, 2005).

## Propiedades de gelatinización



**Figure 1.** Thermograph for huauzontle seeds starch gelatinization. HF: heat flow; T: temperature.

**Figure 1.** Termograma de la gelatinización del almidón de semillas de huauzontle. HF: flujo de calor; T: temperatura.

Un termograma DSC típico de una dispersión de almidón al 4 % (p/v) de semillas de huauzontle se muestra en la Figura 1. La curva DSC muestra un pico endotérmico que se atribuye al proceso de gelatinización. El  $T_{\text{peak}}$  para el almidón de semillas de huauzontle fue  $68.4 \pm 0.57$  °C. El  $T_{\text{onset}}$  fue  $63.2 \pm 0.64$  °C. Para otros pseudocereales, el almidón de quinua gelatiniza a una temperatura relativamente baja (54.2-61.9 °C), que es similar a la  $T_{\text{peak}}$  de trigo y del almidón de papa, pero menor que para el almidón de maíz. Kong *et al.* (2009) encontraron una amplia gama de variaciones en los parámetros térmicos entre 15 cultivares de amaranto: el más alto  $T_{\text{peak}}$  (77.8 °C) fue para el cultivo K350 y el más bajo (68.8 °C) para el cultivo NO1 (*Amaranthus hypochondriacus*). La diferencia en  $T_{\text{peak}}$  entre los almidones se atribuye a la interacción de tres factores: la composición de almidón, la estructura molecular de la amilopectina y la arquitectura de gránulos.

of molecular order of the double helices that form the amylopectin crystallites due to hydrogen bond breaking within the granule (Hoover and Vasantha, 1994; McPherson and Jane, 1999). Amylopectin plays a major role in starch granule crystallinity, the presence of amylose lowers the melting point of crystalline region and the energy for starting gelatinization (Flipse *et al.*, 1996).

### Rheological properties

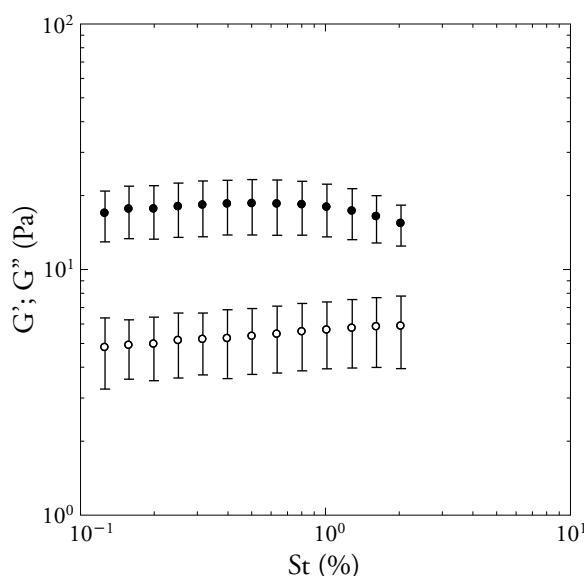
The storage modulus  $G'$  was significantly greater than the loss modulus  $G''$  (Figure 2), and both moduli exhibited some frequency dependence (Figure 3) indicating solid-like characteristics (Nwokocha *et al.*, 2010; Mandala, 2012). The  $G'$  of starch pastes is affected by the rigidity of starch granules (Han *et al.*, 2002); besides,  $G'$  is positively correlated with amylose content and molecular mass (Case *et al.*, 1998). The lineal viscoelasticity zone at 4 % concentration was 0.1 to 3.0 % strain, while at 8 % it was 0.1 to 10.0 % (Figure 2).

Figure 3 shows the variation of storage modulus ( $G'$ ) and loss modulus ( $G''$ ) with angular frequency.  $G'$  was higher than  $G''$  over all the frequency range with the separation between them becoming narrower as angular frequency increased, which is a

El  $\Delta H$  de almidón de la semilla de huauzontle fue de  $10.5 \pm 0.54 \text{ J g}^{-1}$ . El almidón de quinua tiene un  $\Delta H$  de 07.03 a 10.05  $\text{J g}^{-1}$  (Inouchi *et al.*, 1999), almidón de amaranto 15.0 a 18.4  $\text{J g}^{-1}$  (Kong *et al.*, 2009), almidón de maíz 17.2-20.5  $\text{J g}^{-1}$ , almidón de trigo 12.1  $\text{J g}^{-1}$ , almidón de arroz 14.2-16.3  $\text{J g}^{-1}$  y almidón de papa 18.8  $\text{J g}^{-1}$  (Zobel, 1984). El  $\Delta H$  da una medida general de cristalinidad (calidad y cantidad), y es considerado como un indicador de la pérdida del orden molecular de las dobles hélices que forman los cristalitos de amilopectina debido a la rotura de enlaces de hidrógeno dentro del gránulo (Hoover y Vasantha, 1994; McPherson y Jane, 1999). La amilopectina tiene una función importante en la cristalinidad del gránulo de almidón, la presencia de amilosa baja el punto de fusión de la región cristalina y la energía para el inicio de gelatinización (Flipse *et al.*, 1996).

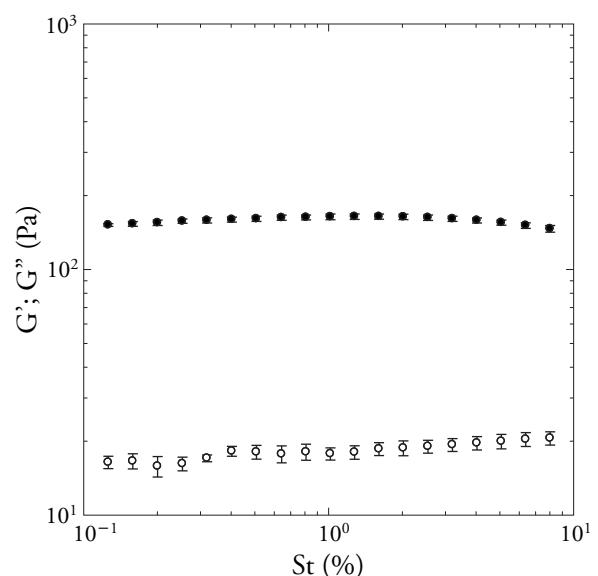
### Propiedades reológicas

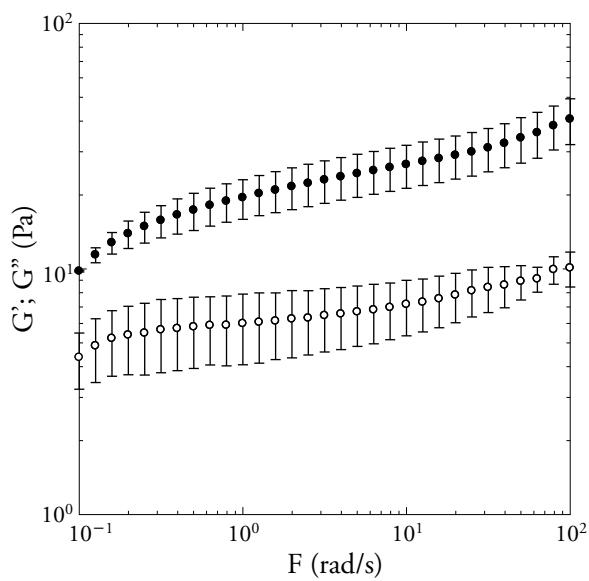
El módulo de almacenamiento  $G'$  fue significativamente mayor que el módulo de pérdida  $G''$  (Figura 2), y ambos módulos exhibieron alguna dependencia de la frecuencia (Figura 3), indicando características casi sólidas (Nwokocha *et al.*, 2010;



**Figure 2.** Average  $G'$  (black circles) and  $G''$  (white circles) for huauzontle starch pastes, 4 % (w/v) (left), 8 % (w/v) (right) for strain sweep tests at 25 °C and 6.28 rad/s. St: strain.

**Figura 2.** Promedio  $G'$  (círculos negros) y  $G''$  (círculos blancos) para pastas de almidón de huauzontle, 4 % (p/v) (izquierda), 8 % (p/v) (derecha) para las pruebas de barrido de tensión a 25 °C y 6,28 rad/s. St: tensión.





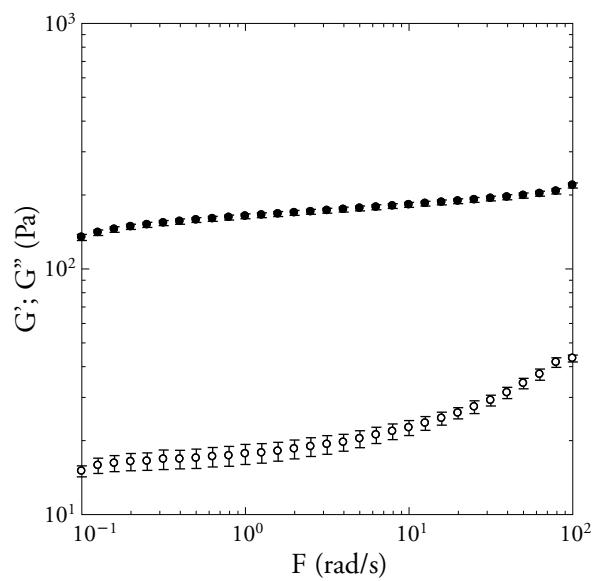
**Figure 3.** Average  $G'$  (black circles) and  $G''$  (white circles) for huauzontle starch pastes, 4 % (w/v) (up), 8 % (w/v) (right) for frequency ( $F$ ) sweep tests at 25 °C and 1 and 4 % strain, respectively.

**Figura 3.** Promedio  $G'$  (círculos negros) y  $G''$  (círculos blancos) para pastas de almidón de huauzontle, 4 % (p/v) (arriba), el 8 % (p/v) (derecha) para las pruebas de frecuencia ( $F$ ) de barrido a 25 °C y 1 y 4 % de tensión, respectivamente.

characteristic of solid-like behavior. There are similar results for other starches from *Lablab purpureus* (Nwokocha *et al.*, 2010).

Figure 4 shows the flow behavior of 4 and 8 % (w/v) huauzontle seed starch pastes. The shear stress *vs.* shear rate curve shows the non-Newtonian shear-thinning character of the pastes (Nuñez-Santiago *et al.*, 2004). There are similar shear-thinning characteristics for other polysaccharides (Nurul *et al.*, 1999).

During the first up-down cycle, an hysteresis loop was observed; for a given shear rate, upward shear stresses were greater than downward shear stresses, indicating some degree of thixotropy. However, on a second up-down cycle the hysteresis loop practically disappeared and the thixotropic behavior was no longer present. This behavior, commonly observed in starch pastes, is attributed to orientation of starch granules along the flow field when pastes are continuously sheared, which leads to destruction of the original granule accommodation at the beginning of the first up and down shear rate cycle. An anti-thixotropic loop was observed for chemically modified waxy corn starch, but it disappeared when pastes were continuously sheared (Tecante and Doublier, 1999). According to Izidoro *et al.*

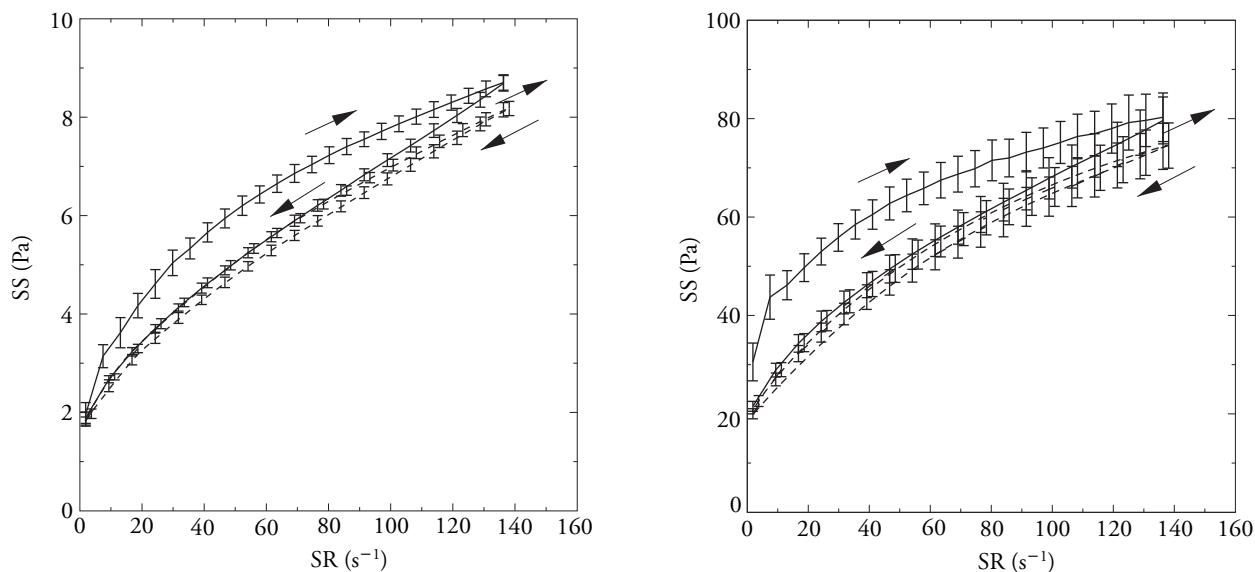


Mandala, 2012). El  $G'$  de pastas de almidón es afectado por la rigidez de los gránulos de almidón (Han *et al.*, 2002); además,  $G'$  está positivamente correlacionado con el contenido de amilosa y la masa molecular (Case *et al.*, 1998). La zona de la viscoelasticidad lineal a una concentración de 4 % fue 0.1 a 3.0 % de tensión, mientras que a una de 8 % fue 0.1 a 10.0 % (Figura 2).

La Figura 3 muestra la variación del módulo de almacenamiento ( $G'$ ) y el módulo de pérdida ( $G''$ ) con frecuencia angular. El  $G'$  es mayor que el  $G''$  sobre toda la gama de frecuencias con la separación entre ellos estrechándose a medida que la frecuencia angular aumentó, lo cual es una característica de comportamiento casi sólido. Hay resultados similares en otros almidones a partir de *Lablab purpureus* (Nwokocha *et al.*, 2010).

La Figura 4 muestra el comportamiento de flujo a 4 y 8 % (p/v) de las pastas de almidón de la semilla de huauzontle. El esfuerzo de corte *vs.* curva de velocidad de cizalla muestra el carácter no Newtoniano reofluidificante de las pastas (Nuñez-Santiago *et al.*, 2004). Para otros polisacáridos hay características reofluidificantes similares (Nurul *et al.*, 1999).

Durante el primer ciclo de arriba-abajo se observó un ciclo de histéresis; para una velocidad especificada



**Figure 4.** Flow curves at 25 °C for 4 % (w/v) (up) and 8 % (w/v) (right) huauzontle seeds starch pastes. Arrows indicate the direction of increase and decrease of shear rate for two consecutive up-down cycles shown by continuous and dashed lines. SS: shear stress; SR: shear rate.

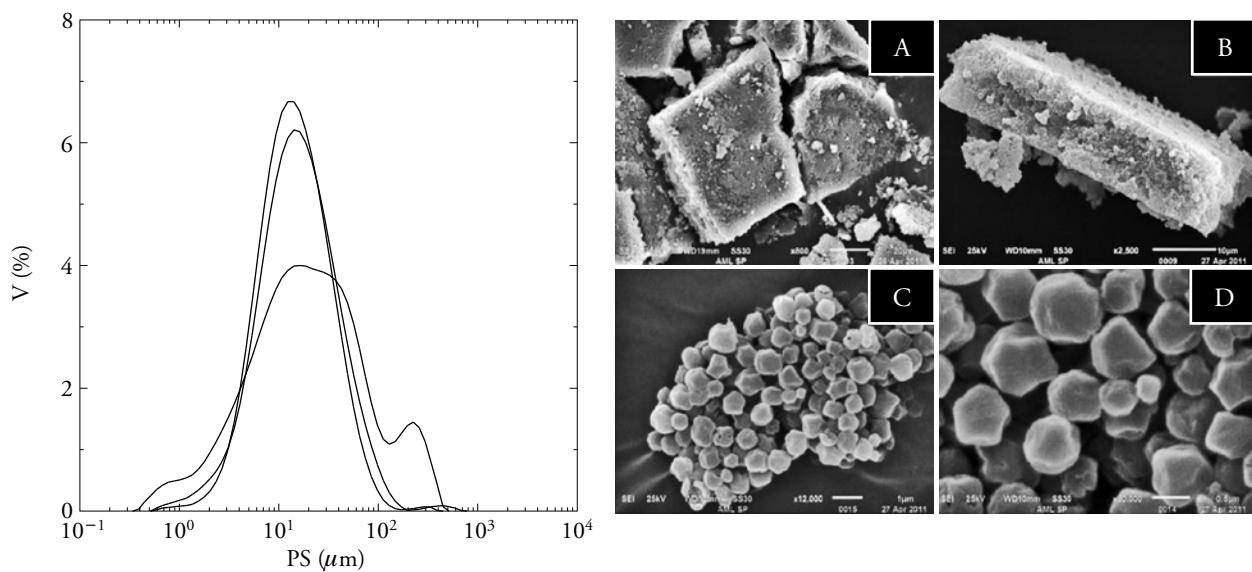
**Figure 4.** Curvas de flujo a 25 °C para pastas de almidón de huauzontle 4 % (p/v) (arriba) y 8 % (p/v) (derecha). Las flechas indican la dirección de aumento y disminución de la velocidad de corte para dos ciclos consecutivos de arriba-abajo mostrados por líneas continuas y discontinuas. SS: tensión de corte; SR: velocidad de corte.

(2007), the knowledge of rheological parameters is important in industrial applications not only to determine the energy consumption to pump a fluid with greater viscosity, but also to solve problems with air incorporation, which causes difficulties in pump operation and with undesired reactions such as oxidation and contamination. Examination of the rheological properties of starches is an important step in the characterization and understanding of their functional properties.

#### Particle size and scanning electron microscopy

The particle size distribution was monomodal for 4 and 8 % (w/v) pastes, and bimodal for raw starch (Figure 5, left). The median diameter for raw starch, 4 and 8 % starch pastes was 19.1, 14.1 and 15.5  $\mu\text{m}$ , respectively. Microscopic observations (Figure 5, A-B right) of the starch samples confirmed association as clusters such as that reported by Varriano-Marston and DeFransisco (1984), who observed aggregates of 18-20  $\mu\text{m}$  in quinoa starch. Aggregates typical of most starches consist of small granules, such as quinoa, amaranth and cow cockle (*Saponaria*

de cizallamiento, las tensiones de cizallamiento hacia arriba fueron mayores que las tensiones de cizallamiento hacia abajo, lo que indica un cierto grado de tixotropía. Sin embargo, en un segundo ciclo de arriba-abajo el ciclo de histéresis prácticamente desapareció y el comportamiento tixotrópico ya no estuvo presente. Este comportamiento, comúnmente observado en pastas de almidón, se atribuye a la orientación de gránulos de almidón a lo largo del campo de flujo cuando las pastas se cortan continuamente, lo que conduce a la destrucción del alojamiento original del gránulo en el inicio del primer ciclo de velocidad de corte arriba y abajo. Una vuelta antitixotrópica se observó para el almidón de maíz ceroso, químicamente modificado pero desapareció cuando las pastas se cortaban continuamente (Tecante y Doublier, 1999). Según Izidoro *et al.* (2007), el conocimiento de los parámetros reológicos es importante en aplicaciones industriales no sólo para determinar el consumo de energía para bombear un fluido con mayor viscosidad, sino también para resolver problemas con incorporación de aire, lo que provoca dificultades en el funcionamiento de la bomba y con reacciones no deseadas, tales como la oxidación y la contaminación. El examen de las propiedades reológicas de los



**Figure 5.** Particle size distribution of raw and 4, and 8 % (w/v) huauzontle seed starch pastes (left), and SEM images (right) of huauzontle starch, A) 800x, B) 2500x, C) 12000x and D) 30000x. V: volume; PS: particle size.

**Figura 5.** Distribución del tamaño de partículas de semillas maduras de huauzontle y 4, y 8 % (p/v) de pastas de almidón (izquierda), e imágenes de MEB (derecha) de almidón de huauzontle, A) 800x, B) 2500x, C) 12000x y D) 30000x. V: volumen; PS: tamaño de partícula.

*vaccaria*) (Lorenz, 1990). Clusters have different size and morphology according to the processing, drying or milling; thus, Zhao and Whistler (1994) found spherical aggregates produced by spray drying of the sample. In the present study, air drying and an analytical mill of blades were used, resulting in block aggregates. Figure 5 (C-D right) shows the morphology of the huauzontle seed starch granules with a 0.5-1.0 μm size, and irregular and polygonal morphology typical of most small granule starches (Jane *et al.*, 1994). The morphology and size observed were similar to those of quinoa and amaranth cultivars with diameters from 1.05 μm to 1.32 μm (Chauhan *et al.*, 1992; Kong *et al.*, 2009). In the present study, the granule surfaces were smooth and without pores, although the presence of broken and truncated granules is not considered in the quality standard of starches (Sriroth *et al.*, 2000). The morphology of starch granules depends on the biochemistry of the chloroplasts or amyloplasts, as well as plant physiology (Singh *et al.*, 2003). Moreover, several factors can affect the granules' properties, including environmental factors such as temperature, storage and cultural practices, thereby influencing the physicochemical and thermal properties of starch granules (Kaur *et al.*, 2009).

almidores es un paso importante en la caracterización y comprensión de sus propiedades funcionales.

### Tamaño de partícula y microscopía electrónica de barrido

La distribución del tamaño de partícula fue monomodal para pastas de 4 y 8 % (p/v) y bimodal para el almidón crudo (Figura 5, izquierda). El diámetro medio de almidón crudo, y pastas al 4 y 8 % almidón fue 19.1, el 14.1 y 15.5 μm, respectivamente. Las observaciones microscópicas (Figura 5, A-B derecha) de las muestras de almidón confirmaron asociación como bloques como los reportados por Varriano-Marston y DeFransisco (1984), quienes observaron agregados de 18-20 μm en almidón de quinua. Agregados típicos de la mayoría de los almidones consisten en pequeños gránulos, como la quinua, el amaranto y la hierba de vaca (*Saponaria vaccaria*) (Lorenz, 1990). Las agrupaciones tienen diferentes tamaños y morfología de acuerdo con el procesamiento, secado o molienda; así, Zhao y Whistler (1994) encontraron agregados esféricos producidos con secado por aspersión de la muestra. En el presente estudio, se usaron secado al aire y un molino analítico de cuchillas, y el resultado fue agregados de bloques. La Figura 5 (C-D derecha)

## CONCLUSIONS

Starch was extracted from huauzontle seeds with adequate yield and acceptable purity. The amylose content suggests that huauzontle starch gels could have a low tendency to retrograde. Pastes exhibited solid-like behavior due mainly to amylose gelation, but amylopectin-rich ghost remnants could act as suspended particle reinforcing the solid-like behavior of gels formed in the continuous phase, with clear differences in dynamic moduli values and dependence with angular frequency when starch concentration was increased. There was non-Newtonian shear-thinning behavior with some degree of thixotropy, as well as an association of very small starch granules into larger particles. These results are the first contribution to describing starch from huauzontle seeds.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The authors appreciate the financial support from the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) through grant 101498.

## LITERATURE CITED

- Aghamirzaei, M., A. Heydari-Dalfard, F. Karami, and M. Fathi. 2013. Pseudo-cereals as a functional ingredient: effects on bread nutritional and physiological properties-Review. *Int. J. Agric. Crop Sci.* 5: 1574-1580.
- Aguilar, Z. E., y S. R. Eckhoff. 2007. Proceso de molienda húmeda a nivel laboratorio de 100 g de maíz amarillo dentado. *Rev. Ciencia Tecnol.* 13: 80-81.
- Ahamed, N. T., R. S. Singhal, P. R. Kulkarni, and M. Pal. 1996. Physicochemical and functional properties of *Chenopodium quinoa* starch. *Carbohydr. Polym.* 31: 99-103.
- Alvani, K., X. Qi, R. Tester, and C. Snape. 2011. Physicochemical properties of potato starches. *Food Chem.* 125: 958-965.
- Araujo-Farroa, P. C., G. Podadera, J. P. J. A. Sobral, and F. C. Menegalli. 2010. Development of films based on quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willdenow) Starch. *Carbohydr. Polym.* 81: 839-848.
- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis (15th ed.). Arlington, VA: AOAC International. 765 p.
- Baldwin, P. M. 2001. Starch granule-associated proteins and polypeptides: A review. *Starch/Starke* 53: 475-503.
- Beleia, A., E. Varriano-Marston, and R. C. Hoseney. 1980. Characterization of starch from pearl millets. *Cereal Chem.* 54: 1096-1107.
- Bernfeld, P. 1951. Enzymes of starch degradation and synthesis. *Adv. Enzymol.* 12: 379-428.

muestra la morfología de los gránulos de almidón de semillas de huauzontle con un tamaño de 0.5-1.0 m, y la morfología poligonal irregular y típica de la mayoría de los almidones granulares pequeños (Jane *et al.*, 1994). La morfología y el tamaño observado fueron similares a los cultivos de quinua y amaranto con diámetros de 1.05  $\mu\text{m}$  a 1.32  $\mu\text{m}$  (Chauhan *et al.*, 1992; Kong *et al.*, 2009). En el presente estudio, las superficies de los gránulos eran lisas y sin poros, aunque la presencia de gránulos rotos y truncados no se considera en la norma de calidad de los almidones (Sriroth *et al.*, 2000). La morfología de los gránulos de almidón depende de la bioquímica de los cloroplastos o amiloplastos, y de la fisiología de la planta (Singh *et al.*, 2003). Además, varios factores pueden afectar las propiedades de los gránulos, incluyendo factores ambientales como temperatura, almacenamiento y prácticas culturales, lo que influye en las propiedades fisicoquímicas y térmicas de los gránulos de almidón (Kaur *et al.*, 2009).

## CONCLUSIONES

El almidón fue extraído de semillas de huauzontle con rendimiento y pureza aceptable. El contenido de amilosa sugiere que los geles de almidón del huauzontle podrían tener una baja tendencia a retrogradar. Las pastas mostraron un comportamiento casi sólido debido principalmente a la gelificación de amilosa, pero los restos de ligeras trazas ricas en amilopectina podrían actuar como partícula suspendida reforzando el comportamiento casi sólido de geles formados en la fase continua, con una clara diferencias en los valores modulares dinámicos y dependencia con frecuencia angular cuando aumentó la concentración de almidón. Hubo un comportamiento No-Newtoniano reofluídificante con cierto grado de tixotropía, así como una asociación de gránulos de almidón muy pequeños en partículas más grandes. Estos resultados son la primera contribución para describir el almidón de las semillas de huauzontle.

—Fin de la versión en Español—



- Beynum, G. M. A., and J. A. Roels. 1985. *Starch Conversion Technology*. New York, USA. Marcel-Dekker. 980 p.
- Błaszczyk, W., S. Valverde, J. Fornal, R. Amarowicz, G. Lewandowicz, and K. Borkowski. 2003. Changes in the

- microstructure of wheat, corn and potato starch granules during extraction of non-starch compounds with sodium dodecyl sulfate and mercaptoethanol. *Carbohydr. Polym.* 53: 63-73.
- Calzetta-Resio, T. N., M. P. Tolaba, and C. Suarez. 2000. Some physical and thermal characteristics of amaranth starch. *Food Sci. Technol. Int.* 6: 371-378.
- Case, S. E., T. Capitani, J. K. Whaley, and Y. C. Shi. 1998. Physical properties and gelation behavior of a low-amylopectin maize starch and other high-amylose maize starches. *J. Cereal Sci.* 27: 301-314.
- Chaires, L., M. Pérez, H. A. Jiménez, A. I. Cantor, and F. Cruz. 2013. Total phenolic content and antioxidant capacity of germinated, popped and cooked Huauzontle (*Chenopodium berlandieri* spp. *nuttalliae*) seeds. *Cereal Chem.* 90: 263-268.
- Charles, L. A., H. Y. Chang, C. W. Ko, K. Shiroth, and C. T. Huang. 2005. Influence of amylopectin structure and amylose content on the gelling properties of five cultivars of cassava starches. *J. Agric. Food Chem.* 53: 2717-2725.
- Chauhan, G. S., A. A. M. Eskin, and R. Tkachuk. 1992. Nutrients and antinutrients in quinoa seed. *Cereal Chem.* 69: 85-88.
- Clerici, M., C. Kallmann, F. Gaspi, M. Morgano, F. Martinez-Bustos, and Y. Chang. 2011. Physical, chemical and technological characteristics of *Solanum lycocarpum* A. St. - Hill (Solanaceae) fruit flour and starch. *Food Res. Int.* 44: 2143-2150.
- Copeland, L., J. Blazek, H. Salman, and M. C. Tang. 2009. Form and function of starch granules. *Food Hydrocolloid.* 23: 1527-1534.
- FAO. Food and Agricultural Organization. 1998. Carbohydrates in human nutrition. *Food and Nutrition Papers*, Rome, Chap. 1. 129 p.
- Flipse, E., C. J. Keetels, E. Jacobson, and R. G. F. Visser. 1996. The dosage effect of the wildtype GBSS allele is linear for GBSS activity, but not for amylose content: absence of amylose has a distinct influence on the physico-chemical properties of starch. *Theor. Appl. Genet.* 92: 121-125.
- Fry, J. 1996. *Biological Data Analysis. A Practical Approach.* OIRP Press. USA. 418 p.
- Galvez, F. C. F., and A. V. A. Resurreccion. 1992. Reliability of the focus group technique in determining the quality characteristics of navy bean noodles. *J. Sensory Study.* 7: 315.
- Gomes, A., P. Da Silva, S. Soares, C. Da Silva, M. Gallão, R. Germani, and R. Nágila. 2009. Isolation and physico-chemical and rheological characterisation of the Brazilian jalap starch (*Operculina tuberosa* Meisn.). *Carbohydr. Polym.* 77: 885-890.
- Han, X. Z., O. H. Campanella, H. Guan, P. L. Keeling, and B. Hamaker. 2002. Influence of maize starch granule-associated protein on the rheological properties of starch pastes. Part I. Large deformation measurements of paste properties. *Carbohydr. Polym.* 49: 315-321.
- Hoover, R., and T. Vasanthan. 1994. Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of cereal, legume and tuber starches. *Carbohydr. Res.* 252: 33-53.
- INEGI. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Septiembre del 2014. [www.inegi.org.mx](http://www.inegi.org.mx).
- Inouchi, N., K. Nishi, S. Tanaka, M. Asai, Y. Kawase, Y. Hata, Y. Konishi, Y. Shaoxian, and H. Fuwa. 1999. Characterization of amaranth and quinoa starches. *J. App. Glycosci.* 46: 233-240.
- Izidor, D. R., B. D. Junior, C. W. Isidoro, M. R. Sierakowski, R. J. Sossela de Freitas, and A. De Paula. 2007. Granules Morphology and rheological behavior of green banana (*Musa cavendishii*) and corn (*Zea mays*) starch gels. *Cien. Agropec.* Lavras. 31: 1443-1448.
- Jane, L., T. Kasemsuwan, S. Leas, H. Zobel, and J. F. Robyt. 1994. Anthology of starch granule morphology by scanning electron microscopy. *Starch/Starke.* 46: 121-129.
- Jiang, Q., W. Gao, X. Li, Y. Xia, H. Wang, S. Wu, L. Huang, C. Liu, and P. Xiao. 2012. Characterizations of starches isolated from five different *Dioscorea* L. species. *Food Hydrocolloids* 29: 35-41.
- Ji, Y., K. Seetharaman, and P. J. White. 2004. Optimizing a small-scale corn-starch extraction method for use in the laboratory. *Cereal Chem.* 81: 55-58.
- Kaur, A., N. Singh, R. Ezekiel, and N. S. Sodhi. Properties of starches separated from potatoes stored under different conditions. *Food Chem.* 114: 1396-1404.
- Kong, X., J. Bao, and H. Corke. 2009. Physical properties of Amaranthus starch. *Food Chem.* 113: 371-376.
- Leach, H. W., L. D. McCowen, and T. J. Schoch. 1959. Swelling power and solubility of granular starches. *Cereal Chem.* 36: 534-544.
- Lindeboom, N., P. R. Chang, K. C. Falk, and R. T. Tyler. 2005. Characteristics of starch from eight quinoa lines. *Cereal Chem.* 82: 216-222.
- Lorenz, K. 1990. Quinoa (*Chenopodium quinoa*) starch: physico-chemical properties and functional characteristics. *Starch/ Starke* 42: 81-86.
- Mandala, I. G. 2012. Viscoelastic properties of starch and non-starch thickeners in simple mixtures or model food. In: de Vicente, J. (ed). *Viscoelasticity: From Theory to Biological Applications*. InTech. England. pp: 217-236.
- McPherson, A. E., and J. Jane. 1999. Comparison of waxy potato with other root and tuber starches. *Carbohydr. Polym.* 40: 57-70.
- Middlewood, P. G., J. K. Carson. 2012. Extraction of amaranth starch from an aqueous medium using microfiltration: Membrane characterisation. *J. Membr. Sci.* 405-406: 284-290.
- Noda, T., S. Tsuda, M. Mori, S. Takigawa, C. Matsuura-Endo, and K. Saito. 2004. The effect of harvest dates on the starch properties of various potato cultivars. *Food Chem.* 86: 119-125.
- Núñez-Santiago, M., L. Bello-Pérez, and A. Tecante. 2004. Swelling-solubility characteristics, granule size distribution and rheological behavior of banana (*Musa paradisiaca*) starch. *Carbohydr. Polym.* 56: 65-75.
- Nurul, I. M., B. M. N. Mohd-Azemi, and D. M. A. Manan. 1999. Rheological behavior of sago (*Metroxylon sagu*) starch paste. *Food Chem.* 64: 501-505.
- Nwokocha, L., and P. Williams. 2009. Some properties of white and yellow plantain (*Musa paradisiaca*, Normalis) starches. *Carbohydrate Polym.* 76: 133-138.
- Nwokocha, L., K. Soetan, and P. Williams. 2010. A study of the properties of starch isolated from three varieties of Lablab purpureus seeds. *Carbohydrate Polym.* 79: 685-693.

- Osundahunsi, F. O., N. T. Fagbemi, E. Kesselman, and E. Simón. 2003. Comparison of the physicochemical properties and pasting characteristics of flour and starch from red and white sweet potato. *J. Agric. Food Chem.* 51: 2232-2236.
- Partap, T., B. D. Joshi, and N. W. Galwey. 1998. Chenopods. *Chenopodium* spp. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 22. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 67 p.
- Pomeranz, Y. 1991. Functional Properties of Food Components. 2<sup>a</sup> ed. Academic Press. USA. pp: 24-78.
- Ruales, J., and B. M. Nair. 1994. Effect of processing on *in vitro* digestibility of protein and starch in quinoa seeds. *Int. J. Food Sci. Technol.* 29:449-456.
- SAGARPA. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. [www.siap.gob.mx/aagricola\\_siap/icultivo/index.jsp](http://www.siap.gob.mx/aagricola_siap/icultivo/index.jsp). (Consulta: diciembre 2013).
- Sandhu, K.S., and N. Singh. 2007. Some properties of corn starches II: Physicochemical, gelatinization, retrogradation, pasting and gel textural properties. *Food Chem.* 101: 1499-1507.
- Sigma-Aldrich. 2014. <http://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/docs/Sigma/Bulletin/sa20bul.pdf>. (Consulta: marzo 2014).
- Singh, J., O. McCarthy, and H. Singh. 2006. Physico-chemical and morphological characteristics of New Zealand Taewa (Maori potato) starches. *Carbohydr. Polym.* 64: 569-581.
- Singh, Y. C., P. A. Seib, and J. E. Bernardin. 1994. Effects of temperature during grainfilling on starches from six wheat cultivars. *Cereal Chem.* 71: 369-383.
- Singh, N., J. Singh, L. Kaur, N. S. Sodhi, and B. S. GILL. 2003. Review: morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. *Food Chem.* 81: 219-231.
- Skrabanja, V., I. Kreft, T. Golob, M. Modic, S. Ikeda, K. Ikeda, S. Kreft, G. Bonafaccia, M. Knapp, and K. Kosmelj. 2004. Nutrient content in buckwheat milling fractions. *Cereal Chem.* 81: 172-176.
- Soni, P. L., H. Sharma, D. Dun, and M. M. Gharia. 1993. Physicochemical properties of *Quercus leucotrichophora* (Oak) starch. *Starch/Starke*. 45: 127-130.
- Souci, S. W., W. Fachmann, and H. Kraut. 2000. Food Composition and Nutrition Tables. Stuttgart: Wissenschaft Verlags. 1300 p.
- Srichuwong, S., C. Suharti, T. Mishima, M. Isono, and M. Hisamatsu. 2005. Starches from different botanical sources: Contribution of starch structure to swelling and pasting properties. *Carbohydr. Polym.* 62: 25-34.
- Sriroth, K., K. Piyachomkwan, S. Wanlapatit, and C. G. Oates. 2000. Cassava starch technology: the Thai experience. *Starch/Starke*. 52: 439-449.
- Steadman, K. J., M. S. Burgoon, B. A. Lewis, S. E. Edwardson, and R. L. Obendorf. 2001. Buckwheat seed milling fractions: description, macronutrient composition and dietary fibre. *J. Cereal Sci.* 33: 271-278.
- Stevenson, D. G., J. Jane, and G. E. Inglett. 2006. Physicochemical properties of pin oak (*Quercus palustris* Muenchh.) acorn starch. *Starch/Starke*. 58: 553-560.
- Tecante, A., and J. L. Doublier. 1999. Steady flow and viscoelastic behavior of crosslinked waxy corn starch-k-carrageenan pastes and gels. *Carbohydr. Polym.* 40: 221-231.
- Tester, R. F., and W. R. Morrison. 1990. Swelling and gelatinization of cereal starches. Effect of amylopectin, amylose and lipid. *Cereal Chem.* 67: 551-557.
- Torruco-Uco, J., and D. Betancur-Ancona. 2007. Physicochemical and functional properties of makal (*Xanthosoma yucatanensis*) starch. *Food Chem.* 101: 1319-1326.
- Varriano-Marston, E., and A. DeFrancisco. 1984. Ultrastructure of quinoa fruit (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Food Microstruct.* 3: 165-173.
- Wang, L., B. J. Xie, J. Shi, S. Xue, Q. C. Deng, and Y. Wei. 2010. Physicochemical properties and structure of starches from Chinese rice cultivars. *Food Hydrocolloid*. 24: 208-216.
- Wolfgang, B., W. Detmold, and G. Hans-Peter. 1999. Potato starch technology. *Starch/Starke* 51: 235-242.
- Yun, S. H., and N. K. Matheson. 1990. Estimation of amylose content of starches after precipitation of amylopectin by concavalin A. *Starch/Starke* 42: 302-305.
- Yusuph, M., R. F. Tester, R. Ansell, and C. E. Snape. 2003. Composition and properties of starches extracted from tubers of different potato varieties grown under the same environmental conditions. *Food Chem.* 82: 283-289.
- Zhao, J., and R. L. Whistler. 1994. Spherical aggregates of starch granules as flavor carriers. *Food Technol.* 48: 104-105.
- Zobel, H. F. 1984. Starch gelatinization and mechanical properties. In: Whistler, R. L., J. N. BeMiller, and E. F. Paschall (eds). *Starch Chemistry and Technology*. Academic Press, London, UK. 291 p.