



Agrociencia

ISSN: 1405-3195

agrocien@colpos.mx

Colegio de Postgraduados

México

Agama-Acevedo, Edith; Ottenhof, Marie Astrid; Farhat, Imad A.; Paredes-López, Octavio; Ortiz-Cereceres, Joaquín; Bello-Pérez, Luis A.

Aislamiento y Caracterización del Almidón de Maíces Pigmentados

Agrociencia, vol. 39, núm. 4, julio-agosto, 2005, pp. 419-429

Colegio de Postgraduados

Texcoco, México

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=30239406>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DEL ALMIDÓN DE MAÍCES PIGMENTADOS

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF STARCH FROM PIGMENTED MAIZES

Edith Agama-Acevedo¹, Marie-Astrid Ottenhof², Imad A. Farhat², Octavio Paredes-López³, Joaquín Ortiz-Cereceres⁴ y Luis A. Bello-Pérez¹

¹Centro de Desarrollo de Productos Bióticos del IPN. km 8.5. Carretera Yauatepec-Jojutla. Colonia San Isidro. Apartado Postal 24. 62731. Yauatepec, Morelos. (labellop@ipn.mx). ²Division of Food Sciences. University of Nottingham. Sutton Bonington Campus. Loughborough LE12 5RD. UK. ³Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN. U. Irapuato. Apartado Postal 629. 36500. Irapuato, Guanajuato. ⁴Genética. Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados. 56230. Montecillo, Estado de México.

RESUMEN

Los maíces pigmentados presentan antocianinas en el grano, las cuales pueden tener un efecto nutraceutico. Se estudiaron dos maíces pigmentados (negro y azul) y uno blanco como referencia. El almidón aislado de los maíces pigmentados tuvo menor contenido de amilosa que el del blanco (27%), importante para las propiedades funcionales de los productos elaborados con estos maíces. Los almidones presentaron la cruz de malta, lo cual indicó que existe un orden dentro del gránulo. El patrón de difracción de rayos X (ordenamiento de largo rango) de los almidones fue del tipo A, pero los maíces pigmentados tuvieron mayor grado de cristalinidad, lo cual coincidió con lo determinado por espectroscopia infrarroja, que mide el ordenamiento de corto rango. La temperatura y entalpía de gelatinización no fue diferente ($p > 0.05$), lo cual podría estar relacionado con la longitud y distribución de las cadenas del almidón. Estos resultados pueden ser útiles para conocer las condiciones y el tipo de procesamiento de los maíces pigmentados y predecir el comportamiento del almidón durante el almacenamiento de los productos elaborados con este cereal.

Palabras clave: Maíz pigmentado, microscopía, propiedades fisicoquímicas.

INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays L.*) es la planta más domesticada y evolucionada del reino vegetal. Existen varias especies de maíz de color blanco, amarillo, rojo, morado, café y azul. Estos maíces pigmentados están en las 41 razas de maíz descritas en México (Ortega *et al.*, 1991), y sus colores negros, morados y rojos se deben a las antocianinas, compuestos presentes en el pericarpio y en la capa de aleurona o en ambas estructuras del grano (Wellhausen *et al.*, 1951; Salinas, 2000). El interés por las antocianinas se debe a sus posibles

ABSTRACT

Pigmented maize grains contain anthocyanins which can have nutraceutical properties. Two pigmented maize varieties (black and blue) and white maize (control) were studied. Starch isolated from pigmented maize had lower amylose content than white maize (27%); this is important in the functional properties of products prepared with these maize varieties. Starches exhibited Maltese cross, indicating that an order exists in the granule. The X-ray diffraction pattern (long-range order) of starches was type A, but pigmented maize, had a higher level of crystallinity, results that concur with those determined for FTIR spectroscopy which measures short-range order. Temperature and enthalpy of gelatinization were not different ($p > 0.05$); this may be related to length and distribution of starch chains. These results can be useful for determining the conditions and type of processing for pigmented maize and for predicting starch response during storage of the products made from this cereal.

Key words: Pigmented maize, microscopy, physicochemical properties.

INTRODUCTION

Maize (*Zea mays L.*) is the most domesticated and evolved plant of the plant kingdom. There are several species of colored maize: white, violet, brown and blue. These pigmented maize varieties are present in the 41 maize races described in Mexico (Ortega *et al.*, 1991), and their black, purple and red colors are due to anthocyanins, compounds that are present in the pericarp and aleurone layer or in both structures of the grain (Wellhausen *et al.*, 1951; Salinas, 2000). The interest in anthocyanins is due to its possible benefits for health since they are considered natural antioxidants (Wang *et al.*, 1997), which can trap free radicals that damage biomolecules (Lee *et al.*, 1997; Stavric, 1994).

Carbohydrates are the main components of cereals and account for 50 to 70% of the grain dry weight: of these, starch and other polysaccharides (dietetic fiber)

Recibido: Julio, 2004. Aprobado: Febrero, 2005.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 39: 419-429. 2005.

beneficios en la salud, ya que se consideran como antioxidantes naturales (Wang *et al.*, 1997), que pueden atrapar radicales libres que dañan las biomoléculas (Lee *et al.*, 1997; Stavric, 1994).

Los carbohidratos son los componentes principales de los cereales y representan 50 a 70% del peso seco del grano; de éstos, el almidón y otros polisacáridos (fibra dietética) son los principales constituyentes. Aproximadamente 86 a 89% del endospermo del maíz es almidón, organizado en partículas discretas (gránulos), cuya morfología, tamaño y características moleculares son propias de cada especie botánica (French, 1984). Químicamente el almidón es un polímero de glucosas unidas a través de enlaces α -1-4 y α -1-6 (en los puntos de ramificación). El almidón está compuesto por dos macromoléculas con diferente estructura: la amilosa o componente lineal, y la amilopectina o componente ramificado. Dentro de los gránulos, el almidón tiene un arreglo semicristalino, y la cristalinidad se debe al ordenamiento y longitud de las cadenas de amilopectina (Robin *et al.*, 1974; Hizukuri, 1986; Oates, 1997). En el almidón de maíz este arreglo produce un patrón de difracción de rayos X denominado tipo A. El modelo químico propuesto para este tipo de estructura está basado en el empaquetamiento de las dobles hélices, en las cuales cada giro está formado por seis moléculas de glucosa y forman un arreglo monoclinico que puede unir dentro de esta estructura seis moléculas de agua (Imberty *et al.*, 1988). En productos a base de maíz como tortillas, botanas, cereales para desayuno y postres, el almidón tiene una función muy importante en las propiedades fisicoquímicas, funcionales y nutricionales de dichos productos.

Debido a que el almidón es el principal constituyente del maíz, y que para los maíces pigmentados no se encontraron estudios en la literatura revisada, acerca de la caracterización de este polisacárido, el objetivo del presente estudio fue aislar el almidón en dos variedades pigmentadas y evaluar sus características morfológicas y moleculares usando diferentes técnicas instrumentales. Esto es importante para explicar el comportamiento durante el procesamiento y almacenamiento de los productos elaborados con estas variedades.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de las harinas

Las semillas de maíces pigmentados (negro y azul), y una variedad blanca, fueron generadas en un programa de mejoramiento genético del Colegio de Postgraduados, México. Los granos fueron molidos (Mapisa Internacional S.A. de C.V., México, D.F.) hasta un tamaño de partícula que pasara la malla 50 U.S. (300 μ m), y la harina se almacenó en frascos de vidrio a 25 °C.

are the main constituents. Approximately, 86 to 89% of the maize endosperm is starch, organized in discrete particles (granules) whose morphology, size and molecular characteristics are unique to each botanical species (French, 1984). Chemically, starch is a polymer of glucose joined by α -1-4 and α -1-6 bonds (at the branching points). Starch is composed of two macromolecules with different structures: amylose, or linear component, and amylopectin, or ramified component. Within the starch granules, the arrangement is semi-crystalline, and crystallinity depends on the order and length of the amylopectin chains (Robin *et al.*, 1974; Hizukuri, 1986; Oates, 1997). In cornstarch, this arrangement produces a pattern of X-ray diffraction denominated type A. The chemical model proposed for this type of structure is based on the packing of the double helices, in which each turn is formed by six molecules of glucose forming a monocline that can, within this structure, join six water molecules (Imberty *et al.*, 1988). In maize-based products such as tortillas, snacks, breakfast cereals and desserts, starch has a very important function in the physical-chemical, functional and nutritional properties of these products.

Because starch is the main constituent of maize and because for pigmented maize no studies were found in the literature reviewed about the characterization of this polysaccharide, the objective of this study was to isolate the starch from two pigmented varieties and evaluate its morphological and molecular characteristics using different instrumental techniques. This is important in explaining the response of the products made with these varieties during processing and storage.

MATERIALS AND METHODS

Flours

The seeds of pigmented maize (black and blue) and a white variety were generated in a genetic improvement program of the Colegio de Postgraduados, México. The grains were ground (Mapisa Internacional S.A. de C.V., Mexico, D.F.) until the particles passed through a 50 U.S. screen (300 μ m); this flour was stored in glass jars at 25 °C.

Proximal analysis of the flours

The gravimetric moisture content was determined by weighing 2 to 3 g of sample and drying in an oven at 130 $\pm$ 2 °C for 2 h. The ash, protein (N $\times$ 5.85) and fat contents were quantified by the official methods 08-01, 46.13, and 30.25 of the AACC (AACC, 2000).

Isolation of starch

The method developed by Gómez *et al.* (1992) was used with slight modifications: time left to set in ether and the different screens

Análisis proximal de las harinas

El contenido de humedad se determinó gravimétricamente pesando 2 a 3 g de muestra y secándola en una estufa a $130 \pm 2^\circ \text{C}$ por 2 h. Las cenizas, proteína ($\text{N} \times 5.85$) y grasa se cuantificaron por los métodos oficiales 08-01, 46.13 y 30.25 de la AACC, (AACC, 2000).

Aislamiento del almidón

Se usó el método desarrollado por Gómez *et al.* (1992) con ligeras modificaciones: el tiempo de reposo en éter y las diferentes mallas usadas en el tamizado. El maíz se molió para obtener una harina, se pesaron 500 g, se adicionó 1 L de éter etílico y se dejó reposar por 24 h. Se eliminó el éter mediante decantación y la harina húmeda se molió con 1 L de etanol a 96%. La suspensión se tamizó en mallas 40, 100 y 200 U.S. y los residuos retenidos en cada malla se lavaron con etanol a 96% para recuperar la mayor cantidad de almidón. La suspensión de almidón fue centrifugada a $3000 \times g$ por 20 min y el precipitado (almidón) se colocó a temperatura ambiente para eliminar el exceso de etanol. El polvo obtenido se almacenó en un frasco de vidrio.

Almidón total

Para verificar la pureza del almidón aislado se determinó el contenido de almidón total por el método enzimático de Goñi *et al.* (1997).

Amilosa total

Se cuantificó usando el método colorimétrico de Hoover y Ratnayake (2002).

Microscopía de luz

Se colocó una pequeña cantidad de almidón en un portaobjeto, se mezcló con una gota de agua destilada y se le puso un cubreobjetos. Los gránulos de almidón fueron observados en un microscopio (Leitz, Wetzlar, Alemania) con luz normal y polarizada.

Difracción de rayos X

El almidón fue colocado en el portamuestra del difractómetro de rayos X (Bruker D5005, Inglaterra) de ángulo ancho, equipado con una fuente de cobre operado a 40 KV y 30 mA, produciendo una radiación de CuK_α con una longitud de onda de $1.54 \text{ \AA}$. Los datos se recolectaron en un rango de $4\text{--}38^\circ$ a intervalos de 0.1° con una velocidad de barrido de $60^\circ/\text{s}$. La línea base del difractograma se corrigió en el intervalo de barrido y el vector se normalizó utilizando el software OPUS 3.0 (Bruker, UK) antes de calcular el índice de cristalinidad.

Espectroscopia infrarroja

Los espectros de infrarrojo medio se obtuvieron con un espectrofotómetro infrarrojo (Bruker, Inglaterra) equipado con un

used to sift. The maize was ground to obtain flour; 500 g were weighed, 1 L of ethylic ether was added and the mixture left to settle for 24 h. The ether was eliminated by decanting and the moist flour was ground with 1 L of 96% ethanol. The suspension was strained through 40, 199 and 299 U.S. screens and the residues retained by each screen were washed with 96% ethanol to recover the greatest amount of starch possible. The starch suspension was centrifuged at $3000 \times g$ for 20 min and the precipitate (starch) was left at room temperature to eliminate excess of ethanol. The powder obtained was stored in glass jars.

Total starch

To verify the purity of the isolated starch, the content of total starch was determined by the enzymatic method of Goñi *et al.* (1997).

Total amylose

Total amylose was quantified using the colorimetric method of Hoover and Ratnayake (2002).

Light microscopy

A small amount of starch was placed on a slide, mixed with a drop of distilled water and covered with a slide cover. The starch granules were observed under a microscope (Leutz, Wetzlar, Germany) with normal and polarized light.

X-ray diffraction

The starch was placed in the sample holder of the wide-angle X-ray diffractometer (Bruker D5005, UK), equipped with a copper power source operated at 40 KV and 30 mA, producing a CuK_α radiation with a wave length of $1.54 \text{ \AA}$. The data were collected in a range of 4 to 30° at intervals of 0.1° with a scanning speed of $60^\circ/\text{s}$. The base line of the diffractogram was corrected in the scanning interval and the vector was normalized using the software OPUS 3.0 (Bruker, UK) before calculating the crystallinity index.

Infrared spectroscopy

Mean infrared spectra were obtained with a spectrophotometer (Bruker, UK) equipped with a DTGS detector and a simple reflectance thermal cell with a diamond crystal (Graseby-specac Ltd., UK). A sealed sapphire cover with a rubber ring seal was used to minimize losses of moisture during the measurements. For each sample, 32 scans with a resolution of 4 cm^{-1} were collected; these were grouped to obtain an average value. Each sample was done in quadruplicate. Before beginning the experiments with the samples, a run with open cells was performed to assure that there were no variations in the intensity of the equipment. The data were analyzed using the software OPUS 3.0 (Bruker, UK). For analysis of the carbohydrate region of the spectrum ($1200\text{--}800 \text{ cm}^{-1}$), a correction of the base line was made using a single point at 1900 cm^{-1} . The spectrum was deconvoluted (Kauppinen *et al.*, 1981) in this region, where the line assumed a

detector DTGS y una celda térmica de simple reflectancia con un cristal de diamante (Graseby-specac Ltd., U.K.). Se utilizó una cubierta sellada de zafiro con un anillo de goma, con la finalidad de minimizar las pérdidas de humedad durante las mediciones. Para cada muestra se recolectaron 32 barridos con una resolución de 4 cm^{-1} y se agruparon para obtener un valor promedio. Cada muestra se hizo por cuadruplicado. Antes de iniciar los experimentos con las muestras, se hizo una corrida con la celda abierta, para observar que no existieran variaciones en la intensidad del equipo. Los datos se analizaron usando el software OPUS 3.0 (Bruker, UK). Para el análisis de la región de carbohidratos del espectro ($1200\text{--}800\text{ cm}^{-1}$), se hizo una corrección de la línea base usando un solo punto a 1900 cm^{-1} . El espectro fue deconvuelto (Kauppinen *et al.*, 1981) en esa región, donde la forma de la línea asumida fue tipo Lorentz, con un factor de deconvolución de 750 cm^{-1} y un factor de reducción de ruido de 0.2.

Calorimetría diferencial de barrido

La temperatura y entalpía de gelatinización de los almidones se estudiaron mediante esta técnica usando un calorímetro DSC 7 (Perkin Elmer, Inglaterra), el cual fue calibrado con indio y ciclohexano. Se pesó el almidón (9-11 mg base seca) en recipientes de acero inoxidable, se adicionó agua destilada (aproximadamente tres veces más que el peso del almidón) para crear un exceso de agua. Los recipientes fueron sellados herméticamente y colocados en un agitador rotatorio durante toda la noche para hidratar completamente las muestras antes de analizar en el equipo. Las muestras se calentaron en el calorímetro desde 0 a $130\text{ }^{\circ}\text{C}$ a una velocidad de $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$. Un recipiente vacío se usó como referencia. Las muestras se analizaron por triplicado.

Análisis estadístico

Se hizo un análisis de varianza con un criterio de clasificación y una prueba de rango múltiple de Tukey (SPSS, V. 6.0, 1996).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis químico y proximal de las harinas

Los porcentajes de humedad y cenizas presentaron diferencias significativas (Cuadro 1). El maíz blanco tuvo el valor más bajo de humedad (6.6%), y el maíz azul el menor contenido de ceniza (1.1%). La proteína varió entre 8.2 y 9.4%, y fue similar en los maíces blanco y negro. La grasa estuvo entre 3.7 y 4.4%, y no fue diferente para el maíz azul y el negro. El almidón total para el maíz blanco fue 60.4%, para el azul 64.9% y para el negro 57.0%. En híbridos de maíz se ha encontrado 70.6 a 73.0% de almidón (Krieger *et al.* 1998), los cuales están dentro del intervalo obtenido en este estudio. La composición química de las muestras es variable y está relacionada con estadio, raza, variedad, tecnología de cultivo y clima (Billeb y Bressani, 2001). Los resultados de la composición

Lorentz-type shape, with a deconvolution factor of 750 cm^{-1} and a noise reduction factor of 0.2.

Differential scanning calorimetry

Gelatinization temperature and enthalpy of the starches were studied with the differential scanning calorimetry technique using a DSC7 calorimeter (Perkin Elmer, UK), which was calibrated with indium and cyclohexane. The starch was weighed (9-11 mg dry base) in stainless steel recipients; distilled water (approximately three times the weight of the starch) was added to create an excess of water. The recipients were hermetically sealed and placed in a rotary agitator during an entire night to completely hydrate the samples before analysis in the equipment. The samples were heated in the calorimeter from 0 to $130\text{ }^{\circ}\text{C}$ at a rate of $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$. An empty recipient was used as reference. The samples were analyzed in triplicate.

Statistical analysis

An analysis of variance with a single classification criterion and a Tukey multiple range test were performed (SPSS, V. 6.0, 1996).

RESULTS AND DISCUSSION

Chemical and proximal analysis of the flours

The percentages of moisture and ash were significantly different (Table 1). White maize had the lowest value for moisture (6.6%) and blue maize had the lowest content of ash (1.1%). Protein varied between 8.2 and 9.4% and was similar in white and black maize varieties. Fat was between 3.7 and 4.4% and was not different in blue and black maize. The total starch for white maize was 60.4%, for blue 64.9% and for black 57.0%. In maize hybrids 70.6 to 73.0% starch has been found (Krieger *et al.*, 1998), which is within the range obtained in this study. The chemical composition of the samples was varied and is related with stage, race, variety, cultivation technology and climate (Billeb and Bressani, 2001). The results of proximal composition of maize were similar to those reported by other authors, although the varieties were different (Paredes-Lopez and Saharopoulos-Paredes, 1983; Gómez *et al.*, 1991).

Total starch (AT)

Purity of the isolated starch (total starch) was 66.2%, 73.5% and 79.2% for white, blue and black maize. White maize had the lowest value, compared with the pigmented maize, indicating that the anthocyanins possibly do not interfere in the isolation process of starch (since the starch of the pigmented maize retains the color of the grain), or that the endosperm of the pigmented maize permits better

Cuadro 1. Composición química (%) de la harina integral de maíces pigmentados.
Table 1. Chemical composition (%) of whole grain flour from pigmented maize.

Muestra	Humedad [†]	Proteínas ^{‡,§}	Cenizas [¶]	Grasa [¶]	Carbohidratos ^Φ
Blanco	6.6 ± 0.09a	9.3 ± 0.09a	1.2 ± 0.07a	4.8 ± 0.07a	78.2
Azul	9.8 ± 0.05b	8.2 ± 0.06b	1.1 ± 0.03b	3.7 ± 0.26b	77.2
Negro	8.4 ± 0.21c	9.4 ± 0.19a	1.6 ± 0.04c	4.0 ± 0.02b	76.7

[†] Media de tres muestras ± error estándar.

[¶] Media de tres muestras ± error estándar, en base seca.

[§] N×5.85.

^Φ Por diferencia.

Valores con diferente letra en una columna son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$).

proximal del maíz fueron similares a los reportados por otros autores, aunque las variedades fueron diferentes (Paredes-López y Saharópulos-Paredes, 1983; Gómez *et al.*, 1991)

Almidón total (AT)

La pureza del almidón aislado (almidón total) fue 66.2%, 73.5% y 79.2% para los maíces blanco, azul y negro. El maíz blanco presentó el valor más bajo en comparación con los maíces pigmentados, lo cual indica que posiblemente las antocianinas no interfieren en el proceso de aislamiento del almidón (ya que el almidón de los maíces pigmentados presenta la coloración del grano), o que el endospermo de los maíces pigmentados permite un mejor aislamiento del polisacárido. Pero el contenido de grasa (Cuadro 1) podría afectar el aislamiento del almidón del maíz.

Amilosa aparente

Los maíces azul y negro presentaron 20 y 22% de amilosa aparente, mientras que el blanco presentó un valor más alto (27%). Estos almidones se pueden considerar como normales debido a su porcentaje de amilosa. La amilosa es importante ya que realiza los procesos de gelificación y retrogradación del almidón cuando éste es cocinado y almacenado, por lo que los maíces pigmentados pudieran formar productos con textura diferente a los elaborados con el maíz blanco. Los almidones con mayor contenido de amilosa presentan mayor velocidad de retrogradación (Biliaderis, 1991). Sin embargo, la longitud de las cadenas de la amilopectina influyen considerablemente en este fenómeno (Yuan *et al.*, 1993), lo cual afectaría la textura y digestibilidad de los productos elaborados con este tipo de maíces. Un efecto benéfico de la retrogradación sería la formación de estructuras retrogradadas que tienen una alta resistencia al ataque enzimático, ya que se forma almidón resistente, el cual está asociado con la prevención de enfermedades como el cáncer de colon, disminución del colesterol y

isolation of the polysaccharide. But the fat content (Table 1) could affect corn starch isolation.

Apparent amylose

The black and blue maize varieties had 20 and .22% apparent amylose, while white maize had the highest value (27%). These starches can be considered normal for their amylose percentage. Amylose is important since it carries out the processes of gelling and retrogradation of the starch when it is cooked and stored, and so pigmented maize could result in products with a texture different from those made with white maize. The starches with the highest content of amylose have the highest rate of retrogradation (Biliaderis, 1991). However, the length of the amylopectin chains has a considerable influence in this phenomenon (Yuan *et al.*, 1993), affecting texture and digestibility of the products made with this type of maize. One beneficial effect of retrogradation would be the formation of retrograded structures that are highly resistant to enzymatic attack, forming resistant starch, which has been associated with the prevention of diseases such as colon cancer, reduction of cholesterol and glucose in blood, as well as problems of obesity (Asp *et al.*, 1996).

Light microscopy

White light microscopy showed the size and shape of the starch granules, and with polarized light the order within their structure was observed (Figure 1). What is important is the ordered radial arrangement of the starch molecules due to its semi-crystalline nature. This was evidenced by the birefringence observed as a Maltese cross at the center of the starch grains (Figure 1b, d, f). This is the point of development of the starch granule during biosynthesis known as hilum. The three starches exhibited a well-defined Maltese cross, which is due to a high degree of molecular orientation of the starch components, but does not refer to the existence of some crystalline form within the starch granule. The Maltese cross in the granule corroborates that the structures are

glucosa en sangre, así como de los problemas de obesidad (Asp *et al.*, 1996).

Microscopía de luz

La microscopía de luz clara mostró el tamaño y forma de los gránulos de almidón, y con luz polarizada se observó el orden dentro de su estructura (Figura 1). Lo importante es el arreglo ordenado radial de las moléculas de almidón, debido a su naturaleza semicristalina. Esto fue evidente por la birrefringencia observada como la cruz de malta en la parte media de los gránulos de almidón (Figura 1b, d, f); éste es el punto de desarrollo del gránulo de almidón durante la biosíntesis conocido como hilum. Los tres almidones mostraron una cruz de malta bien definida, lo cual se debe a un grado alto de orientación molecular de los componentes del almidón, pero esto no hace referencia a la existencia de alguna forma cristalina dentro del gránulo de almidón. La cruz de malta dentro del gránulo corrobora que se tienen estructuras intactas, no dañadas durante el proceso de aislamiento del almidón. La forma de los gránulos fue esférica, y su tamaño fue 3-20 μm . Sin embargo, la distribución de tamaños en los almidones fue diferente: el maíz negro tuvo una mayor cantidad de gránulos de 15-20 μm , comparado con los maíces blanco o azul. Estas diferencias en tamaños y distribución de los gránulos de almidón puede ser importante en las propiedades fisicoquímicas y funcionales de los productos de maíz, ya que tamaños de

intact, undamaged during the isolation process of the starch. The shape of the granules was spherical and their size was 3-20 μm . However, the distribution of the sizes in the starches was different: black maize had a larger quantity of granules 15-20 μm , compared with white or blue maize. These differences in sizes and distribution of starch granules could be important in the physical-chemical and functional properties of the maize products since smaller granules can absorb a larger amount of water (Paredes-López *et al.*, 1989; Sánchez-Hernández *et al.*, 2002) and result in processed products with different characteristics. The isolated maize starches have granule sizes between 8 and 20 μm (Blanshard, 1987) and normal and waxy maize starches have spherical granules 2-30 μm (Tester *et al.*, 2004). The size of the granules depends on the maize variety. In a sample of commercial cornstarch a granule size between 8 and 10 μm was found with electronic scanning microscopy (Hernandez-Lauzardo *et al.*, 2004). With starches isolated from wheat of different varieties, two populations of granules were obtained (2-5 μm and 18-33 μm), but there were no differences in the distribution of sizes nor in morphology, relative to starches from normal and waxy varieties (Yoo and Jane, 2002).

X-ray diffraction

The starches exhibited a type A pattern of X-ray diffraction (Figure 2), which is typical in starches isolated

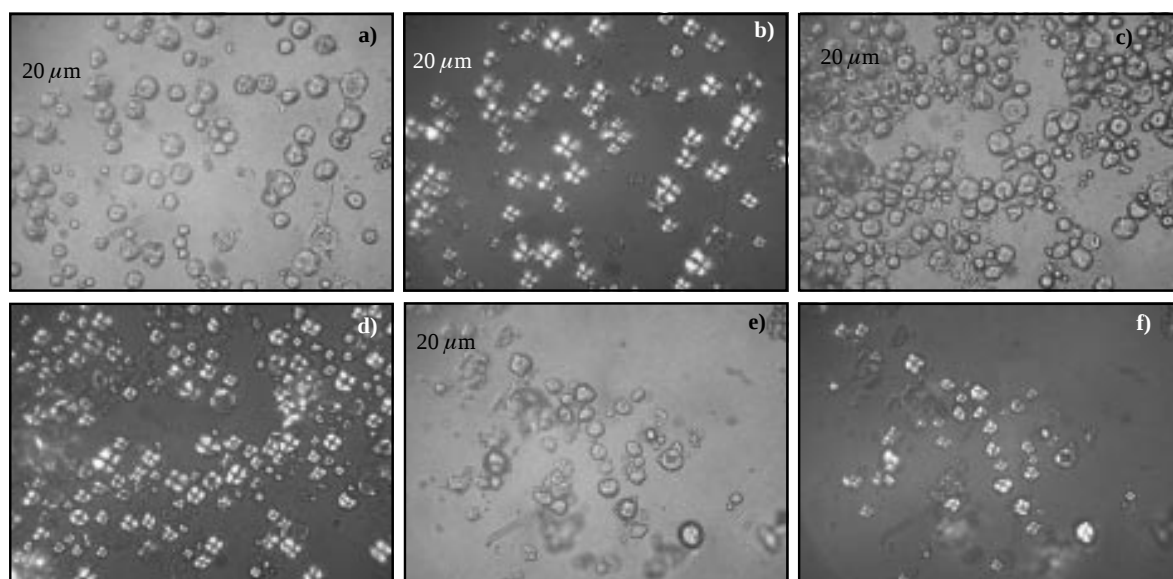


Figura 1. Microscopía de luz de almidones aislados de maíces pigmentados: a) luz clara maíz negro; b) luz polarizada maíz negro; c) luz clara maíz azul; d) luz polarizada maíz azul; e) luz clara maíz blanco; f) luz polarizada maíz blanco.

Figure 1. Light microscopy of starch isolated from pigmented maize: a) white light, black maize; b) polarized light, black maize; c) white light, blue maize; d) polarized light, blue maize; e) white light, white maize; f) polarized light, white maize.

gránulos más pequeños pueden absorber mayor cantidad de agua (Paredes-López *et al.*, 1989; Sánchez-Hernández *et al.*, 2002) y dar características diferentes al producto procesado. Los almidones aislados de maíz tienen tamaños de gránulos de 8-20 μm (Blanshard, 1987), y almidones de maíz normal y ceroso (waxy) tienen gránulos esféricos de 2-30 μm (Tester *et al.*, 2004); el tamaño de los gránulos depende de la variedad de maíz. En una muestra de almidón de maíz comercial se encontró un tamaño de gránulo entre 8-10 μm usando microscopía electrónica de barrido (Hernández-Lauzardo *et al.*, 2004). Con almidones aislados de trigos de diferentes variedades se obtuvieron dos poblaciones de gránulos (2-5 μm y 18-33 μm), pero no hubo diferencias en la distribución de tamaños ni en la morfología, al comparar los almidones de las variedades normal y cerosa (Yoo y Jane, 2002).

Difracción de rayos X

Los almidones mostraron un patrón de difracción de rayos X del tipo A (Figura 2), el cual es típico en los almidones aislados de cereales, pero se encontraron diferencias en los tamaños de los picos, lo cual se manifestó al calcular la cristalinidad. El almidón de maíz negro tuvo una cristalinidad de 32% (± 0.9), el azul 26% (± 0.5) y el blanco 22% (± 1.6). En almidones de trigo el porcentaje de cristalinidad varió dependiendo de la variedad, pero el contenido de amilopeptina fue más importante (Yoo y Jane, 2002); sin embargo, la cristalinidad para esos almidones de trigo fue 10-13%, valores menores a los determinados para los almidones de maíz en el presente estudio. Esta diferencia se debe probablemente al método usado en el procesamiento de los datos para calcular la cristalinidad, ya que la cantidad de amilopeptina cristalina en almidones normales de maíz (con 30% de amilosa) usando difracción de rayos X estuvo entre 30 y 43% (Tester *et al.*, 2004). En el presente estudio los almidones tuvieron un pico pequeño a un valor de $2\theta = 20^\circ$ (Figura 2), el cual es más grande que el de almidones cerosos, lo que refleja la presencia de complejos entre amilosa y lípidos. Esto se debe a la cantidad alta de lípidos en el grano de maíz, ya que si se observa la composición proximal de las harinas de maíz, los valores están entre 3.7 y 4.4%. El nivel de cristalinidad puede ser importante cuando los productos con almidón son almacenados, ya que durante el almacenamiento hay retrogradación del almidón, que modifica las propiedades de textura y nutricionales de los productos. Los almidones de maíz con mayor cristalinidad pueden retrogradar a mayor velocidad (Yuan *et al.*, 1993) o producir estructuras más resistentes a la hidrólisis por las enzimas digestivas (Rendón-Villalobos *et al.*, 2002). Por tanto, los productos elaborados con maíz negro, como los productos

from cereals, but differences were found in peak size, which was manifested when crystallinity was calculated. Black cornstarch had a crystallinity of 32% (± 0.9), blue 26% (± 0.5) and white 22% (± 1.6). In wheat starches the percentage of crystallinity varied depending on the variety, but the content of amylopectin was more important (Yoo and Jane, 2002); however, crystallinity for these wheat starches was 10-13%, lower values than those determined for the cornstarches found in the present study. This difference is likely due to the method used in processing the data to calculate crystallinity since the quantity of crystalline amylopectin in normal cornstarches (with 30% amylose) using X-ray diffraction was between 30 and 43% (Tester *et al.*, 2004). In our study the starches had a small peak at a value of $2\theta = 20^\circ$ (Figure 2), which was higher than that of waxy starches, reflecting the presence of amylose and lipid complexes. This is due to the high amount of lipids in the maize grain since, if the proximal composition of the maize flour is observed, the values are between 3.7 and 4.4%. The level of crystallinity can be important when the products made with starch are stored since during storage starch retrogradation occurs, modifying the texture and nutritional properties of the products. Cornstarches with greater crystallinity can retrograde faster (Yuan *et al.*, 1993) or produce structures more resistant to hydrolysis by digestive enzymes (Rendon-Villalobos *et al.*, 2002). Therefore, the products made with black maize, such as nixtamalized products, could rapidly change in texture after preparation.

Infrared spectroscopy

The information obtained with this technique is related to the short-range ordering in the starch molecule

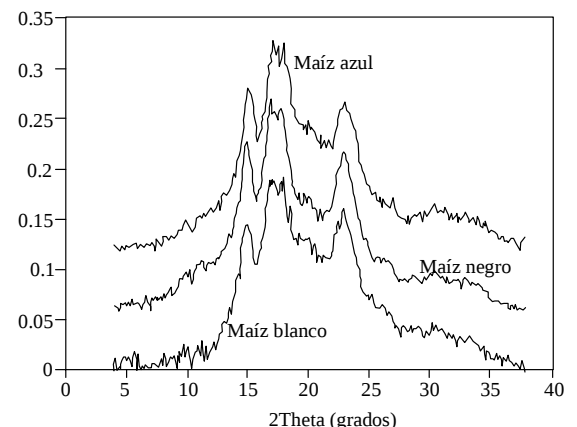


Figura 2. Patrones de difracción de rayos X de almidones aislados de maíces pigmentados.

Figure 2. X-ray diffraction patterns of starches isolated from pigmented maize.

nixtamalizados, podrían cambiar rápidamente su textura después de su elaboración.

Espectroscopía infraroja

La información obtenida con esta técnica está relacionada con el ordenamiento de corto rango en la molécula de almidón (Sevenou *et al.*, 2002). Los espectros de los almidones estudiados se muestran en la Figura 3. Dentro del almidón hay una región amorfa y una cristalina, y la cantidad de cada una es importante para predecir el comportamiento de este polisacárido cuando es procesado, o el de los productos que contienen almidón cuando son almacenados. La relación de las absorbancias (bandas) a $1022:1045\text{ cm}^{-1}$ se utilizó para representar el orden en los almidones. La banda a una longitud de onda de 1045 cm^{-1} está relacionada con la región ordenada (Smits *et al.*, 1998) y la banda a 1022 cm^{-1} con el componente amorfo (Van Soest *et al.*, 1995). Los valores obtenidos para esta relación fueron 1.46, 1.47 y 1.37 para los almidones de maíz azul, negro y blanco. Los almidones aislados de las variedades pigmentadas tuvieron mayor ordenamiento (más zonas cristalinas) que el almidón de maíz blanco, lo cual coincide con los valores de cristalinidad obtenidos por difracción de rayos X, aunque esta última técnica mide el ordenamiento de largo rango en la muestra. La diferencia en el ordenamiento de corto rango de las muestras estudiadas, podría influenciar algunas propiedades fisicoquímicas y funcionales, así como la digestibilidad de estos almidones.

Calorimetría diferencial de barrido (CDB)

Con la CDB se estudiaron las propiedades de gelatinización de los almidones en exceso de agua (Cuadro 2). No hubo diferencias apreciables en las temperaturas de inicio de la gelatinización entre los almidones de maíz. La temperatura pico, que está relacionada con la temperatura de gelatinización promedio de los gránulos de almidón, no fue estadísticamente diferente para los tres almidones ($p>0.05$); además, la temperatura final mostró un comportamiento similar. Las entalpías de gelatinización fueron 18.9 , 19.0 y 18.5 g^{-1} de almidón seco para el negro, azul y blanco, lo cual indica que estos almidones requieren una energía similar para su gelatinización. La transición observada corresponde a la disociación de las moléculas de amilosa y amilopectina dentro de los gránulos de almidón, así como la lixiviación de amilosa hacia la fase acuosa o continua (Fujita *et al.*, 1992; Liu *et al.*, 1991; Rusell y Juliano, 1983). La temperatura de gelatinización para un almidón de maíz comercial fue $69.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ y la entalpía (ΔH) 13.8 J g^{-1} (Lewandowicz *et al.*, 2000). Pero Wang y White, (1994) encontraron una temperatura mayor ($71.5\text{ }^{\circ}\text{C}$), y una ΔH

(Evenou *et al.*, 2002). The starch spectra studied are shown in Figure 3. In starch there is an amorphous region and a crystalline region; the quantity of each is important in predicting the response of this polysaccharide when it is processed or that of the products that contain starch when they are stored. The absorbance ratio (bands) of $1022:1045\text{ cm}^{-1}$ was used to represent the order in the starches. The wave length band of 1045 cm^{-1} is related to the ordered region (Smits *et al.*, 1998) and the band at 1022 cm^{-1} to the amorphous component (Van Soest *et al.*, 1995). The values obtained for this ratio were 1.46, 1.47, and 1.37 for the blue, black and white cornstarches. The isolated starches of the pigmented varieties had greater ordering (more crystalline areas) than white maize starch, coinciding with the crystallinity values obtained by X-ray diffraction, although the latter technique measures long-range ordering in the sample. The difference in short-range ordering of the studied samples could influence some of the physical-chemical and functional properties, such as the digestibility of these starches.

Differential scanning calorimetry (DSC)

With DSC the gelatinization properties of the starches in excess water were studied (Table 2). There were no appreciable differences in the temperatures at initial gelatinization among the cornstarches. The peak temperature, which is related to average gelatinization temperature of the starch granules, was not statistically different ($p>0.05$) among the three starches; the final temperature also exhibited similar response. The gelatinization enthalpies were 18.9 , 19.0 and 18.5 g^{-1} of dry starch for black, blue and white, indicating that these

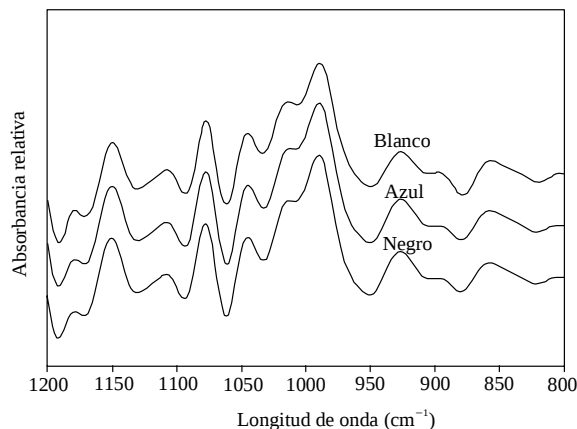


Figura 3. Espectros de infrarrojo de almidones aislados de maíces pigmentados.

Figure 3. Infrared spectra of starches isolated from pigmented maize.

Cuadro 2. Gelatinización de almidones aislados de maíces pigmentados medida por calorimetría diferencial de barrido[†]
Table 2. Gelatinization of starches isolated from pigmented maize measured by differential scanning calorimetry.

Muestra	T _i	T _p	T _f	ΔH (Jg ⁻¹)	Complejo amilosa-lípido ΔH (Jg ⁻¹)
Azul	65.8 ± 0.05	73.1 ± 0.26	79.9 ± 0.52	19.0 ± 0.14	0.4
Blanco	64.7 ± 0.22	73.3 ± 0.08	80.2 ± 0.11	18.5 ± 0.0	0.2
Negro	65.9 ± 0.03	72.8 ± 0.08	79.7 ± 0.9	18.9 ± 0.10	0.3

T_i, T_p, T_f Temperaturas de gelatinización.

ΔH (y g⁻¹) entalpía de gelatinización por gramo de almidón, base seca.

[†] Media de tres repeticiones ± error estándar.

Valores con diferente letra en una columna son estadísticamente diferentes (p ≤ 0.05).

menor (12.8 Jg⁻¹) para el almidón de maíz. Para un almidón aislado de 15 líneas de maíz nuevas, se encontraron temperaturas de gelatinización entre 66.1 y 71.6 °C (Ji *et al.*, 2003). Estas temperaturas fueron ligeramente menores que las obtenidas para los maíces pigmentados, pero los ΔH fueron mayores, posiblemente porque en el presente estudio estos valores se calcularon por gramo de almidón, pero Ji *et al.* (2003) lo calcularon por gramo de muestra, y en ocasiones la muestra no es completamente almidón, ya que contiene impurezas.

Los termogramas para los almidones de maíces pigmentados presentaron un pico pequeño de fusión debido a la disociación del complejo amilosa-lípidos (97-102 °C). Estos resultados coinciden con el pico pequeño observado por difracción de rayos X, mencionado anteriormente, el cual se formaría por la presencia de esta clase de complejos.

CONCLUSIONES

El contenido de almidón en los maíces estudiados estuvo entre 57.0 y 64.9%, aislándose con una pureza de 66.2 a 79.2%. Los almidones de maíces pigmentados tuvieron menos amilosa que el maíz blanco, lo cual coincide con los valores mayores de cristalinidad determinados por difracción de rayos X y espectroscopia infrarroja. Los gránulos de los almidones tuvieron un tamaño entre 3-20 μm pero se encontraron diferencias en la distribución de tamaños, lo cual podría repercutir en sus propiedades funcionales y nutricionales. El almidón aislado del maíz azul presentó un mayor contenido de antocianinas que el almidón del maíz negro, aunque en las harinas integrales el maíz negro tuvo 10 veces mayor concentración de éstas que el maíz azul. Las temperaturas de gelatinización de los tres almidones fueron similares, pero se encontraron ligeras diferencias en las entalpías de este fenómeno, ya que los maíces pigmentados tuvieron valores mayores, lo cual está relacionado con la estructura molecular de los almidones. La información obtenida es importante para el procesamiento de estos maíces, ya sea para la preparación de tortillas u otros productos como

starches require similar amounts of energy for gelatinization. The transition observed corresponds to the dissociation of the amylose and amylopectin molecules within the starch granules, as well as to the lixiviation of amylose toward the aqueous or continuous phase (Fujita *et al.*, 1992; Liu *et al.*, 1991; Russel and Juliano, 1983). Gelatinization temperature for a commercial cornstarch was 69.5 °C and enthalpy (ΔH) was 13.8 Jg⁻¹ (Lewandowicz *et al.*, 2000). But Wang and White (1994) found a higher temperature (71.5 °C) and a lower ΔH (12.8 Jg⁻¹) for cornstarch. For isolated starch from 15 new maize lines, gelatinization temperatures between 66.1 and 71.6 °C were found (Ji *et al.*, 2003). These temperatures were slightly lower than those obtained for pigmented maize, but the ΔH were higher, possibly because in our study these values were calculated per gram of starch, while Ji *et al.* (2003) calculated it per gram of sample, and occasionally the sample is not all starch, but contains impurities.

The thermograms for starches from pigmented maize had a small fusion peak due to the dissociation of the amylose-lipid complex (97-102 °C). These results coincide with the small peak observed for X-ray diffraction mentioned above, which would form because of the presence of this type of complex.

CONCLUSIONS

The starch content in the studied maize varieties was between 57.0 and 64.9%, isolated with a purity of 66.2 to 79.2%. The pigmented maize starch contained less amylose than white maize, coinciding with the higher values of crystallinity determined by X-ray diffraction and infrared spectroscopy. The starch granules were between 3 and 20 μm in size, but differences in size distribution were found, which could have repercussions in functional nutritional properties. Starch isolated from blue maize had a higher content of anthocyanins than the starch from black maize, although in whole grain flours black maize had a concentration 10 times higher than blue maize. Gelatinization temperatures of the three

cereales para el desayuno o botanas, así como para predecir las características funcionales o nutricionales de los productos durante su almacenamiento.

AGRADECIMIENTOS

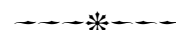
Se agradece el apoyo económico de la CGPI-IPN y COFAA-IPN. Edith Agama Acevedo agradece el apoyo económico del CONACYT.

LITERATURA CITADA

- AACC American Association of Cereal Chemists. 2000. Approved Methods of the AACC. 10th ed. The Association. St. Paul, MN.
- Asp, N. G., J. M. M. Van Amelsvoort and J. G. A. J. Hautvast. 1996. Nutritional implications of resistant starch. *Nutr. Res. Rev.* 9: 1-31.
- Billeb de Sinibaldi, A. C., y R. Bressani, R. 2001. Características de cocción de once variedades de maíz. *Arch. Latinoam. Nutr.* 51: 86-94.
- Biliaderis, C. G. 1991. The structure and interactions of starch with food constituents. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 69: 60-78.
- Blanshard, J. M. V. 1987. Starch granule structure and function: a physicochemical approach. *In: Starch: Properties and Potential.* Galliard, T. (ed) New York, USA. pp: 16-54.
- French, D. 1984. Organization of starch granules. *In: Starch: Chemistry and Technology.* Whistler, R. L., J. N. BeMiller, and E. F. Paschall (eds). Academic Press, New York. pp: 183-247.
- Fujita, S., T. Lida, and G. Fujiyama. 1992. Relationship between gelatinization temperature and enthalpy of starch from graminous crops by DSC. *Starch/Stärke* 44: 456-461.
- Gómez, M. H., R. D. Waniska, and L. W. Rooney. 1991. Starch characterization of nixtamalized corn flour. *Cereal Chem.* 6: 578-582.
- Gómez, H. M., J. K. Lee, V. M. Mc Donough, R. D. Waniska, and L. W. 1992. Corn starch changes during tortilla and tortilla chip processing. *Cereal Chem.* 69: 275-279.
- Goñi, I., A. García-Alonso, and F. Saura-Calixto. 1997. A starch hydrolysis procedure to estimate glycemic index. *Nutr. Res.* 17: 427-437.
- Hernández-Lauzardo, A. N., M. G. Méndez-Montealvo, M. G. Velázquez del Valle, J. Solorza-Feria, and L. A. Bello-Pérez. 2004. Isolation and partial characterization of Mexican Oxalis tuberosa starch. *Starch/Stärke* 56:357-363.
- Hizukuri, S. 1986. Polymodal distribution of the chain lengths of amylopectins and its significance. *Carbohydr. Res.* 4: 342-347.
- Hoover, R. and R. Ratnayake. 2002. Determination of total amylose content of starch. *In: Current Protocols in Food Analytical Chemistry.* Wrolstad, R. E., T. E. Acree, H. An, E. A. Dekker, M. A. Penner, D. S. Deir, S. J. Schwartz, C. F. Shoemaker and P. Sporns (eds). John Wiley, NY. Section E, Unit 2-3.
- Imberty, A., H. Chanzy, S. Perez, A. Buleon, and V. Tran. 1988. The double-helical nature of the crystalline part of A-starch. *J. Molec. Biol.* 201: 365-378.
- Ji, Y., K. Seetharaman, K. Wong, L. M. Pollak, S. Duvick, J. Jane, and P. J. White. 2003. Thermal and structural properties of unusual starches from developmental corn lines. *Carbohydr. Polym.* 51: 439-450.
- Kaupinnen, J. K., D. J. Moffat, H. H. Mantsch, and D. G. Camerum. 1981. Fourier self-deconvolution: A method for resolving intrinsically overlapped bands. *Applied Spectroscopy* 35: 271-276.
- Krieger, K. M., L. M. Pollak, T. J. Brumm, and P. J. White. 1998. Effects of pollination method and growing location on starch thermal properties of corn hybrids. *Cereal Chem.* 75: 656-659.
- Lee, L. S., E. U. Chang, J. W. Rhim, B. S. Ko, and S. W. Choi. 1997. Isolation and identification of anthocyanins from purple sweet potatoes. *J. Food Sci. Nutr.* 2: 83-88.

starches were similar, but slight differences were found in the enthalpies of this phenomenon; pigmented maize had higher values, and this is related to the molecular structure of the starches. The information obtained is important for processing these maize varieties into tortillas or other products such as breakfast cereals or snacks, and to predict functional or nutritional characteristics of the products during storage.

—End of the English version—



- Lewandowicz, G., T. Jankowski, and J. Fornal. 2000. Effect of microwave radiation on physicochemical properties and structure of cereal starches. *Carbohydr. Polym.* 42: 193-199.
- Liu, H. J., C. Lelièvre, and W. Ayoub. 1991. A study of starch gelatinization using differential scanning calorimetry, X-ray and birefringence measurements. *Carbohydr. Polym.* 210: 175-182.
- Oates, C. G. 1997. Towards an understanding of starch granules structure and hydrolysis. *Trends Food Sci. Tech.* 8: 375-382.
- Ortega, R. A., J. Sanchez, G. F. Castillo, y J. M. Hernández, 1991. Estado actual sobre los maíces nativos de México. *In: Avances en el Estudio de los Recursos Fitogenéticos de México.* Ortega R., P. G. Palomino, H. F. Castillo, G. V. A. González y M. Livera (eds). SOMEFI, A.C. México. pp: 161-196.
- Paredes-López, O., and M. E. Saharópulos-Paredes, 1983. A review of tortilla production technology. *Bakers Digest.* 13: 16-25.
- Paredes-López, O., M. L. Schevenin, D. Hernández-López, and A. Cárabez-Trejo. 1989. Amaranth starch-isolation and partial characterization. *Starch/Stärke* 41: 205-207.
- Rendón-Villalobos, R., L. A. Bello-Pérez, P. Osorio-Díaz, J. Tovar, and O. Paredes-López. 2002. Effect of storage time on in vitro digestibility and resistant starch content in nixtamal, masa and tortilla. *Cereal Chem.* 79: 340-344.
- Robin, J. P., C. Mercier, R. Charbonniere, and A. Guilbot. 1974. Lintnerized starches. Gel filtration and enzymatic studies of insoluble residues from prolonged acid treatment of potato starch. *Cereal Chem.* 51: 389-409.
- Rusell, P. L., and B. O. Juliano. 1983. Differential scanning calorimetry of rice starches. *Starch/Stärke* 35: 382-386.
- Salinas Moreno, Y. 2000. Antocianinas en granos de maíces criollos mexicanos. Tesis de Doctorado. Colegio de Posgraduados. Montecillo, México. 102 p.
- Sánchez-Hernández, L. J. Solorza-Feria, M. G. Méndez-Montealvo, O. Paredes-López, and L. A. Bello-Pérez. 2002. Isolation and partial characterization of okenia (*okenia hypogaea*) starch. *Starch/Stärke* 54: 193-197.
- Sevenou, O., S. E. Hill, I. A. Farhat, and J. R. Mitchell. 2002. Organisation of the external region of the starch granule as determined by infrared spectroscopy. *Int. J. Biol. Macrom.* 3: 79-85.
- Smits, A. L. M., F. C. Ruhnau, J. F. G. Vliegthart, and J. J. G. Van Soest. 1998. Ageing of starch based systems as observed with FT-IR and solid state NMR spectroscopy. *Starch/Stärke* 50: 478-483.
- SPSS para Windows. 1996. Programación y Análisis Estadístico. M. Ferrán A. (ed.). Mc-Graw Hill, México, D.F. 608 p.
- Stavric, B. 1994. Antimutagens and anticarcinogens in foods. *Food Chem. Toxicol.* 32: 79-90.
- Tester, R. F., J. Karkalas, and X. Qi. 2004. Starch- composition, fine structure and architecture. *J. Cereal Sci.* 39: 151-165.
- Van Soest, J. J. G., H. Tournois, D. de Wit, and J. F. G. Vliegthart. 1995. Short-range structure in (partially) crystalline potato starch

- determined with attenuated total reflectance Fourier-transform IR spectroscopy. *Carbohydr. Res.* 279: 201-214.
- Wang, L. Z., and P. J. White. 1994. Functional properties of oat starches and relationships among functional and structural characteristics. *Cereal Chem.* 71: 451-458.
- Wang, H., G. Cao, and R. L. Prior. 1997. The oxygen radical absorbing capacity and anthocyanins. *J. Agric. Food Chem.* 45: 304-309.
- Wellhausen, E. J., L. M. Roberts, E. Hernández, and P. C. Mangelsdorf. 1951. Razas de maíz en México. Su origen, características y distribución. *In: Xolocotzia. Obras de Efraín Hernández Xolocotzi. Revista de Geografía Agrícola. Tomo II* Universidad Autónoma de Chapingo. pp: 609-732.
- Yoo, S. H., and J. L. Jane. 2002. Structural and physical characteristics of waxy and other wheat starches. *Carbohydr. Polym.* 49: 297-305.
- Yuan, R. C., D. B. Thompson, and C. D. Boyer. 1993. Fine structure of amylopectin in relation to gelatinization and retrogradation behavior of maize starches from three wx-containing genotypes in two inbred lines. *Cereal Chem.* 70: 81-89.