



## Structural and physicochemical characterization of avocado seed starches modified by high-temperature acid hydrolysis

### Caracterización estructural y fisicoquímica de almidones de semilla de aguacate modificados mediante hidrólisis ácida a alta temperatura

de Dios-Avila, N.<sup>1</sup> , Tirado-Gallegos, J. M.<sup>2</sup> , Estrada-Virgen, M. O.<sup>3</sup> , Rios-Velasco, C. A.<sup>4</sup> , Luna-Esquivel, G.<sup>3</sup> , Zamudio-Flores, P. B.<sup>4</sup> , Isiordia-Aquino, N.<sup>3</sup>, Cambero-Campos, O. J.<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Doctorado en Ciencias Biológico Agropecuarias. Universidad Autónoma de Nayarit. Km. 9, Carretera Tepic-Compostela C.P. 63780. Xalisco, Nayarit, México. <sup>2</sup>Facultad de Zootecnia y Ecología, Universidad Autónoma de Chihuahua, Periférico Francisco R. Almada Km. 1, C.P. 31453, Chihuahua, Chihuahua, México. <sup>3</sup>Unidad Académica de Agricultura, Universidad Autónoma de Nayarit. Km. 9, Carretera Tepic-Compostela C.P. 63780. Xalisco, Nayarit, México. <sup>4</sup>Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A. C., Unidad Cuauhtémoc, Av. Río Conchos S/N Parque Industrial. C.P. 31570, Chihuahua, México.

**Cite this paper/Como citar este artículo:** de Dios-Avila, N., Tirado-Gallegos, J. M., Estrada-Virgen, M. O., Rios-Velasco, C., Luna-Esquivel, G., Zamudio-Flores, P. B., Isiordia-Aquino, N., Cambero-Campos, O. J. (2022). Structural and physicochemical characterization of avocado seed starches modified by high-temperature acid hydrolysis. *Revista Bio Ciencias* 9, e1272. doi: <https://doi.org/10.15741/revbio.09.e1272>



#### ABSTRACT

The modification of starches by physical or chemical methods is useful to enhance the physicochemical properties of native starches. Avocado seed starches were modified by acid hydrolysis (AH) with hydrochloric acid (HCl 0.15 N) and high temperatures (70 and 80 °C, 30 min). The level of modification was estimated through physicochemical analysis, dextrose equivalent (DE) determination, scanning electron microscopy (SEM), X-ray diffraction (XRD), Fourier transform-infrared spectroscopy (FTIR), and functional properties. High production yield (~95 %) of modified starches, low moisture content, and higher whiteness values of the material, was obtained. The heat-moisture treatment (HMT) gelatinized the granule and exposed

#### RESUMEN

La modificación de los almidones por medios físicos o químicos se utiliza para mejorar las propiedades fisicoquímicas de los almidones nativos. Los almidones de semilla de aguacate fueron modificados mediante hidrólisis ácida (AH) con ácido clorhídrico (HCl 0.15 N) a altas temperaturas (70 y 80 °C, 30 min). El nivel de modificación se evaluó mediante un análisis fisicoquímico, determinación del equivalente en dextrosa (DE), microscopía electrónica de barrido (SEM), difracción de rayos X (XRD), espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) y propiedades funcionales. Los almidones modificados se obtuvieron con un alto rendimiento de producción (~95 %), con un bajo contenido de humedad y mayores valores de blancura del material. El tratamiento de calor-humedad (HMT) gelatinizó el gránulo y expuso su interior al HCl, lo que causó la destrucción completa de los gránulos de almidón, lo que provocó una disminución en el contenido de amilosa, cambios en la cristalinidad, y un incremento el contenido de DE, evidenciando diferentes mecanismos de hidrólisis entre las fuentes evaluadas (FTIR y XRD). Los resultados

#### Article Info/Información del artículo

Received/Recibido: September 19<sup>th</sup> 2021.

Accepted/Aceptado: January 20<sup>th</sup> 2022.

Available on line/Publicado: February 14<sup>th</sup> 2022.

#### \*Corresponding Author:

Octavio Jhonathan, Cambero-Campos. Unidad Académica de Agricultura, Universidad Autónoma de Nayarit. Km. 9, Carretera Tepic-Compostela. C.P. 63780. Xalisco, Nayarit, México. E-mail: [jhony695@gmail.com](mailto:jhony695@gmail.com)

its interior to HCl, which destroyed the starch granules, leading to a decrement in amylose content, changes in crystallinity, and an increase in DE content, evidencing different hydrolysis mechanisms among the evaluated sources (FTIR and XRD). The functional properties of assessed materials exhibited a greater water affinity, showing an increase in the water absorption and solubility index at a temperature of 30 °C. In conclusion, the degree of modification caused by high-temperature AH is dependent on the botanical source, extending its versatility of use.

## KEY WORDS

Hydrolysis; HCl; Solubility index; Crystallinity; Avocado; Corn.

## Introduction

Starch is the predominant storage polysaccharide of plants and is considered a natural, renewable, and inexpensive polymer, widely used in industry (Wang, S. & Copeland, 2015). This biopolymer is employed as a thickening, encapsulating, gelling and texturizing agent (Liu *et al.*, 2017). Starch applications rely heavily on functional properties linked to granule size and shape and the structural organization of its main components (Bertolini, 2010).

There is currently a growing interest in starches with new or improved functional properties beyond those provided by starches acquired from conventional sources such as cereals and tubers (Velásquez *et al.*, 2017; Paraginski *et al.*, 2019). For this reason, researchers around the world have reported the functional properties and potential applications of starches obtained from unconventional sources such as the seeds of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) (Noor *et al.*, 2014), mango (*Mangifera indica*) (Tesfaye *et al.*, 2018a), and recently, avocado fruit (*Persea americana* Mill.) (Rivera *et al.*, 2019).

Avocado seeds are considered an agro-industrial by-product from the processing of avocado pulp, which generates large quantities of this residue (Tesfaye *et al.*, 2018b). Despite this, avocado seeds hold a significant amount of starch (20-40 %), suggesting the high potential

de las propiedades funcionales, evidenciaron una mayor afinidad al agua en los materiales evaluados, al presentar un incremento en tasa de absorción y solubilidad en agua a una temperatura de 30 °C. En conclusión, el grado de modificación causado por la AH a las altas temperaturas se vio influenciado por la fuente botánica, ampliando su versatilidad de usos.

## PALABRAS CLAVE

Hidrolisis; HCl; Índice de solubilidad; Cristalinidad; Aguacate; Maíz.

## Introducción

El almidón es el principal polisacárido de almacenamiento de las plantas y es considerado un polímero natural, renovable y barato, ampliamente utilizado en la industria (Wang, S. & Copeland, 2015). Este biopolímero es empleado como agente espesante, encapsulante, gelificante y texturizante (Liu *et al.*, 2017). Las aplicaciones del almidón dependen en gran medida de sus propiedades funcionales, las cuales están relacionadas con el tamaño y forma de los gránulos y con la organización estructural de sus principales componentes (Bertolini, 2010).

Actualmente existe un creciente interés por almidones con nuevas o mejores propiedades funcionales que las que ofrecen los almidones obtenidos de las fuentes convencionales como los cereales y tubérculos (Velásquez *et al.*, 2017; Paraginski *et al.*, 2019). Por tal razón, diversos grupos de investigación alrededor del mundo han reportado las propiedades funcionales y potenciales aplicaciones de almidones obtenidos de fuentes no convencionales como las semillas de jaca (*Artocarpus heterophyllus*) (Noor *et al.*, 2014), mango (*Mangifera indica*) (Tesfaye *et al.*, 2018a), y recientemente, del fruto de aguacate (*Persea americana* Mill.) (Rivera *et al.*, 2019).

Las semillas de aguacate se consideran un residuo agroindustrial proveniente de la explotación de su pulpa, lo cual genera grandes cantidades de este subproducto (Tesfaye *et al.*, 2018b). Pese a esto, las semillas de aguacate contienen una cantidad significativa de almidón (20-40 %), lo cual sugiere el alto potencial para su re-valorización (Alves *et al.*, 2017). El almidón obtenido a partir de semillas de aguacate, se caracteriza por su alto contenido de amilosa aparente (32 %), sus gránulos son de forma triangular y circulares con

for additional re-valorization (Alves *et al.*, 2017). Starch obtained from avocado seeds is characterized by its high apparent amylose content (32 %), its granules are triangular and circular with sizes ranging from 6-32  $\mu\text{m}$ , leading to gels with opaque appearance and some level of syneresis (Chel *et al.*, 2016; Dos Santos *et al.*, 2016; Cornelia & Christianti, 2018; Rivera *et al.*, 2019).

On the other hand, avocado seed starches exhibit good thickening properties, high purity, ability to form viscous pastes, and low cost (Chel *et al.*, 2016) which are comparable to those of a conventional source such as corn (Builders *et al.*, 2010). Often, native starches are functionally limited in applications due to their low water solubility, thermal decomposition, higher tendency to retrograde, low freeze-thaw stability, and tendency to undergo syneresis (Beninca *et al.*, 2013). Therefore, several types of modifications are used to increase or diversify potential applications (de Oliveira *et al.*, 2014).

Starches can be modified by physical, chemical, enzymatic, and genetic methods (Abbas *et al.*, 2010). Acid hydrolysis (AH) is a chemical modification that alters the physicochemical properties of starch without destroying the granular structure, mainly affecting the amylose amorphous region (Hoover, 2000). AH also improves solubility, resistance to gel formation and decreases starches viscosity (Wang, Y. *et al.*, 2003). On the other hand, among the physical modifications methods, the most widely used is heat-moisture treatment (HMT), which consists of heat treatment ( $>50^\circ\text{C}$ ) of starch dispersions at low moisture levels ( $<35\%$ ) for a certain period (15 min-24 h) (Köksel *et al.*, 2007). HMT in starches promotes higher heat stability, crystallinity changes, increased solubility, and swelling power of granules, while viscoelastic properties are affected (Arns *et al.*, 2014).

AH and HMT have been widely studied as starch modification methods, but the combination of AH with higher temperatures has rarely been studied. Maryam *et al.* (2016) evaluated the optimal conditions for obtaining dextrans from avocado seed starch by AH with HCl (0.5-0.15 N); at different temperatures (70, 80, and 90  $^\circ\text{C}$ ) and reaction times (15, 30, and 45 min); the modification promoted a significant increase in the percentage of solubility in cold water. Therefore, the present study aimed to evaluate the effects of AH at high temperatures on the

tamaños que varían de 6-32  $\mu\text{m}$ , los cuales producen geles con apariencia opaca y con cierto nivel de sinéresis (Chel *et al.*, 2016; Dos Santos *et al.*, 2016; Cornelia & Christianti, 2018; Rivera *et al.*, 2019).

Por otra parte, los almidones de semillas de aguacate presentan buenas propiedades espesantes, alta pureza, capacidad para formar pastas viscosas y bajo costo (Chel *et al.*, 2016) las cuales han resultado similares a las de una fuente convencional como el maíz (Builders *et al.*, 2010). A menudo, los almidones nativos están restringidos funcionalmente en aplicaciones, debido a su baja solubilidad en agua, descomposición térmica, mayor tendencia a la retrogradación, baja estabilidad al congelamiento-deshielo y tendencia a sufrir la sinéresis (Beninca *et al.*, 2013). Debido a esto, se emplean diversos tipos de modificaciones, con la finalidad de incrementar o diversificar sus factibles aplicaciones (de Oliveira *et al.*, 2014).

Los almidones pueden modificarse por medios físicos, químicos, enzimáticos y genéticos (Abbas *et al.*, 2010). La hidrólisis ácida (AH), es una modificación química que cambia las propiedades fisicoquímicas del almidón, sin destruir la estructura granular, afectando principalmente la región amorfa de la amilosa (Hoover, 2000). La AH también aumenta la solubilidad, la resistencia a formación de geles y disminuye la viscosidad de los almidones (Wang, Y. *et al.*, 2003). Por otra parte, dentro de las modificaciones físicas, la más utilizada es el tratamiento calor-humedad (HMT), la cual consiste en el tratamiento térmico ( $>50^\circ\text{C}$ ) de dispersiones de almidón a niveles bajos de humedad ( $<35\%$ ), durante un cierto periodo de tiempo (15 min-24 h) (Köksel *et al.*, 2007). El HMT en los almidones, promueve mayor estabilidad al calor, cambios de cristalinidad, incremento en la solubilidad y poder de hinchartamiento de los gránulos; mientras que son afectadas las propiedades viscoelásticas (Arns *et al.*, 2014).

La AH y el HMT se han estudiado ampliamente como métodos de modificación del almidón, pero la combinación de AH con mayores temperaturas rara vez se han estudiado. Maryam *et al.* (2016) evaluaron las condiciones óptimas para la obtención de dextrans a partir de almidón de semillas de aguacate mediante AH con HCl (0.5-0.15 N); a diferentes temperaturas (70, 80, y 90  $^\circ\text{C}$ ) y tiempos de reacción (15, 30 y 45 min); la modificación promovió un aumento significativo en porcentaje de la solubilidad en agua fría. Por lo que, el objetivo del presente estudio consistió en evaluar los efectos de la AH a altas temperaturas sobre las propiedades de almidones de semillas de aguacate regional y cv. Hass. Las principales propiedades de los almidones hidrolizados se compararon con

properties of regional and cv. Hass avocado seed starches. The main properties of the hydrolyzed starches were compared with their native counterparts and with a conventional source such as native and hydrolyzed corn starch, through physicochemical analysis, FTIR, XRD, SEM, and functional properties (WAI and WSI).

## **Material and Methods**

### **Materials**

Native seed starch from regional avocado and cv. Hass were provided by the Universidad Autónoma de Nayarit, Nayarit, Mexico. For comparative analysis, commercial corn starch was used, which was provided by the Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD) Unidad Cuauhtémoc, Chihuahua, Mexico. The reagents (analytical grade) were acquired from Sigma-Aldrich (Toluca, Estado de México, Mexico).

### **Obtaining modified starch by AH-HMT**

Native starches were modified following the methodology proposed by Maryam *et al.* (2016) with adaptations; Starch dispersions (30 % w/v) were prepared in 0.15 N HCl, which some were heated on a stirring hot plate (Corning PC420-D) at 70 and the others at 80 °C under constant stirring at 280 rpm for 30 min. Afterward, 100 mL of distilled water was added to each dispersion and then neutralized with sodium hydroxide (NaOH 0.05 N) to a pH of 7. The dispersions were dried in an oven at 41 °C for 72 h. Obtained solids were ground in a mortar and pestle until passing through a 150 µm sieve. Finally, samples were stored in airtight polyethylene bags until further analysis.

### **Physicochemical analysis, tristimulus color, apparent amylose content, and reducing sugars**

Moisture (method 934.01) and ash content (method 942.05) were determined following the official guidelines of the AOAC (2002). Bulk and true density were evaluated following the methodology proposed by the Corn Refiners Association (1986). Samples tristimulus color values were measured with a Konica Minolta CR-300 colorimeter (Minolta, Osaka, Japan), and the readings were recorded in CIELAB color space ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ). Apparent amylose content was determined according to Williams *et al.* (1970) and dextrose

sus contrapartes nativas y con una fuente convencional como el almidón nativo e hidrolizado de maíz, mediante análisis fisicoquímico, microscopía electrónica de barrido (SEM), difracción de rayos X (XRD), espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) y propiedades funcionales (WAI y WSI).

## **Material y Métodos**

### **Materiales**

El almidón nativo de semilla de aguacate regional y cv. Hass fue proporcionado por la Universidad Autónoma de Nayarit, Nayarit, México. Con fines de comparación, se utilizó almidón comercial de maíz, el cual fue proporcionado por el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD) Unidad Cuauhtémoc, Chihuahua. Los reactivos (grado analítico), fueron adquiridos de Sigma-Aldrich (Toluca, Estado de México, México).

### **Obtención de almidón modificado mediante AH-HMT**

Los almidones nativos se modificaron de acuerdo con la metodología propuesta por Maryam *et al.* (2016) con modificaciones. Se prepararon dispersiones de almidón (30 % p/v) en HCl 0.15 N, las cuales unas fueron calentadas sobre una placa de calentamiento (Corning PC420-D) a 70 y las otras a 80 °C bajo agitación constante a 280 rpm durante 30 min. Posteriormente, a cada dispersión se le añadieron 100 mL de agua destilada y se neutralizaron con hidróxido de sodio (NaOH 0.05 N) hasta un pH de 7. Las dispersiones fueron secadas en una estufa a 41 °C por 72 h, los sólidos obtenidos se molieron en un mortero hasta pasar a través de un tamiz de 150 µm. Finalmente, los materiales fueron almacenados en bolsas de polietileno herméticas, hasta su posterior análisis.

### **Análisis fisicoquímico, color tri-estímulo, contenido de amilosa aparente y azúcares reductores**

Se determinó el contenido de humedad (método 934.01) y cenizas (método 942.05) de acuerdo a los lineamientos oficiales de la AOAC (2002). La densidad aparente y real, se evaluó siguiendo la metodología propuesta por la Corn Refiners Association (1986). El color tri-estímulo de las muestras se midió con un colorímetro Konica Minolta CR-300 (Minolta, Osaka, Japón) y las lecturas se registraron en el espacio de color CIELAB ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ). El contenido de amilosa aparente se determinó de acuerdo con Williams *et al.*

equivalent (DE) content following the methodology of Miller (1959).

#### **Particle Size and Scanning Electron Microscopy (SEM)**

Particle morphology in the samples of native and modified starches was analyzed with an ESEM FEI QUANTA 200 scanning electron microscope (FEI Co. Eindhoven, the Netherlands) according to Gunning *et al.* (1999). Subsequently, the particle size distribution in six fields was analyzed using ImageJ software (ImageJ 2019, Version 1.52p).

#### **Fourier-Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)**

Characterization of native and modified starches by FTIR was performed with an infrared spectrophotometer (Spectrum Two, PerkinElmer, Massachusetts, USA) with a UATR (Universal Attenuated Total Reflectance) accessory. Vibrational transition frequencies were recorded in wavenumbers ( $\text{cm}^{-1}$ ) within the mid-infrared. A total of 34 scans per sample were recorded with a resolution of  $4 \text{ cm}^{-1}$  in the region from 450 to  $4,000 \text{ cm}^{-1}$  (Tirado *et al.*, 2016). Spectra were corrected by drawing a straight baseline between 1200 and  $800 \text{ cm}^{-1}$  and deconvolutionized with a mean width of  $26 \text{ cm}^{-1}$  and a deconvolution factor of 2.4 with a triangular apodization function. The absorbance intensity in the deconvoluted spectra from the baseline in the bands  $1022 \text{ cm}^{-1}$  and  $1047 \text{ cm}^{-1}$  was used to obtain the crystallinity index ( $1022 \text{ cm}^{-1}/1047 \text{ cm}^{-1}$ ) (Ye *et al.*, 2018). Finally, water affinity was determined through the ratio between  $1022/995 \text{ cm}^{-1}$  bands (Van Soest *et al.*, 1995).

#### **X-Ray Diffraction (XRD) analysis**

To determine the crystalline structure of the modified and native starches, an X-ray diffractometer (Rigaku, model SmartLab), with a Cu-K $\alpha$  radiation generator and high-speed D/teX detector, was used. Diffractograms were collected in a  $2\theta$  angular range from 5 to  $40^\circ$  with a voltage of 40 kV and a scanning speed of  $4^\circ/\text{min}$ .

#### **Functional properties**

The water absorption index (WAI) and water solubility index (WSI) of the starches were estimated following Anderson procedure (1969) with modifications. In brief, 0.444 g (dry basis) of the sample were weighed

(1970) y el contenido de dextrosa equivalente (DE) siguiendo la metodología de Miller (1959).

#### **Tamaño de partícula y microscopía electrónica de barrido (SEM)**

La morfología de las partículas en las muestras de los almidones nativos y modificados se analizó con un microscopio electrónico de barrido ESEM FEI QUANTA 200 (FEI Company, Eindhoven, the Netherlands) de acuerdo con Gunning *et al.* (1999). Posteriormente, se analizó la distribución de tamaño de partícula en seis campos utilizando el software ImageJ (ImageJ 2019, Versión 1.52p).

#### **Espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR)**

La caracterización de los almidones nativos y modificados por FTIR se realizó con un espectrofotómetro de infrarrojo (Spectrum Two, PerkinElmer, Massachusetts, EUA) con un módulo UATR (Reflectancia total atenuada universal). Las frecuencias de transición vibracional se registraron en números de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) dentro del infrarrojo medio. Se registraron un total de 34 barridos por muestra con una resolución de  $4 \text{ cm}^{-1}$  en la región de 450 a  $4000 \text{ cm}^{-1}$  (Tirado *et al.*, 2016). Los espectros se corrigieron trazando una línea base recta entre  $1200$  y  $800 \text{ cm}^{-1}$  y se deconvolvularon con una anchura media de  $26 \text{ cm}^{-1}$  y un factor de deconvolución de 2.4 con la función de apodización triangular. La intensidad de la absorbancia en los espectros deconvolvidos a partir de la línea base en las bandas  $1022 \text{ cm}^{-1}$  y  $1047 \text{ cm}^{-1}$  se utilizó para obtener el índice de cristalinidad ( $1022 \text{ cm}^{-1}/1047 \text{ cm}^{-1}$ ) (Ye *et al.*, 2018) y se determinó la afinidad del agua, mediante la relación entre las bandas  $1022/995 \text{ cm}^{-1}$  (Van Soest *et al.*, 1995).

#### **Análisis de difracción de rayos X (XRD)**

Para determinar el arreglo cristalino los almidones modificados y sus contrapartes nativas, se utilizó un difractómetro de rayos X (Rigaku, modelo Smartlab), con un generador de radiación Cu K- $\alpha$  y detector de alta velocidad D/teX. Los difractogramas se colectaron en un intervalo angular  $2\theta$  de 5 a  $40^\circ$  con un voltaje de 40 kV y una velocidad de barrido de  $4^\circ/\text{min}$ .

#### **Propiedades funcionales**

Los índices de absorción de agua (WAI) e índice de solubilidad en agua (WSI) de los almidones se midieron de acuerdo con Anderson (1969) con modificaciones. Se pesaron 0.444 g de muestra en base seca, en tubos de

and placed into 15 mL polypropylene tubes (Corning ®), and 10 mL of distilled water preheated to 30 °C was added. After initiating heating, samples in suspension were placed in a water bath (30 °C, 30 min) and vortexed for 1 min at 10 and 20 min, respectively. The suspensions were centrifuged at 6,500 × g at room temperature (~24 °C), for 30 min. The volume of the supernatant (with soluble material) was measured and placed in a beaker to be dried at 100 °C for 4 h, and the tube containing the gelled insoluble material was immediately weighed.

### Statistical analysis

A completely randomized design was used with a sample size of at least three replicates for each experimental analysis ( $n \geq 3$ ). The data were submitted to ANOVA and a Tukey's mean separation test ( $p = 0.05$ ), using Statistical Minitab® 18.1 software (SCIENTEC, State College, Pennsylvania, USA).

## Results and Discussion

### **Yield, physicochemical analysis, and amylose content**

#### **Yield**

The recovery percentage of hydrolyzed starches with respect to their initial weight is shown in Table 1. The yield of hydrolyzed starches at 70°C ranged from 90.84 to 96.52 % without significant differences among the sources used; however, despite assessing the same HCl concentration when increasing the reaction temperature to 80 °C, the yield ranged from 89.42 to 98.14 %, observing a reduction in the yield percentage of hydrolyzed starch isolated in regional avocado (89.42 to 96.52 %). In this regard, Xia *et al.* (2010) reported similar behavior in hydrolyzed starches from *Fritilla ussurensis* and *Rhizoma dioscoreae*, pointing out that, based on the initial mass, hydrolysis promotes reductions in the yield of recovered starch. However, these results are more elevated than those reported by Gonçalves *et al.* (2014) for pine nut (*Araucaria angustifolia* Bertol. Kuntze) starches (67 %) obtained by hydrolysis (22 °C, 50 days), this may be attributed to the fact that, during hydrolysis, small water-soluble molecules are released, which are discarded after centrifugation.

polipropileno (Corning ®) de 15 mL y se les adicionaron 10 mL de agua destilada precalentada a 30 °C. Las muestras en suspensión fueron colocadas en un baño de agua a 30 °C por 30 min, y se agitaron en un vórtex por 1 min a los 10 y 20 min, respectivamente, después de iniciado el calentamiento. Las suspensiones fueron centrifugadas a 6,500 × g a temperatura ambiente (~24 °C), por 30 min. Se midió el volumen del sobrenadante (con material soluble) y se colocó en un vaso de precipitado para ser secado a 100 °C por 4 h e inmediatamente se pesó el tubo que contenía el material insoluble gelificado.

### Análisis estadístico

Se empleó un diseño completamente al azar con un tamaño de muestra de mínimo tres repeticiones por cada análisis experimental ( $n \geq 3$ ). Los resultados obtenidos fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA). Las medias fueron separadas por prueba de Tukey ( $p = 0.05$ ), usando el software Statistical Minitab® 18.1(SCIENTEC, State College, Pennsylvania, EUA).

## Resultados y Discusión

### **Rendimiento, análisis fisicoquímico y contenido de amilosa**

#### **Rendimiento**

El porcentaje de recuperación de los almidones hidrolizados con respecto a su peso inicial se muestra en el Tabla 1. El rendimiento de almidones hidrolizados a 70 °C oscilo de 90.84 a 96.52 % sin encontrarse diferencias significativas entre las fuentes empleadas; sin embargo, a pesar de evaluar la misma concentración de HCl al aumentar la temperatura de reacción a 80 °C, el rendimiento vario de 89.42 a 98.14 %, observándose una caída en el porcentaje de rendimiento en el almidón hidrolizado de aguacate regional (89.42 a 96.52 %). Al respecto, Xia *et al.* (2010) reportan un comportamiento similar en almidones hidrolizados de *Fritilla ussurensis* y *Rhizoma dioscoreae*; indicando que, con base a la masa inicial, la hidrólisis promueve decrementos en la cantidad de almidón recuperado. Sin embargo, estos resultados son superiores a los reportados por Gonçalves *et al.* (2014) para almidones de piñón (*Araucaria angustifolia* Bertol. Kuntze) (67 %) obtenidos por hidrólisis (22 °C, 50 días), esto puede atribuirse a que, durante la hidrólisis, se liberan pequeñas moléculas solubles en agua, que son descartadas después de realizada la centrifugación.

**Moisture**

Seed starches moisture content of regional avocado, cv. Hass and commercial corn, both native and hydrolyzed at 70 and 80 °C, were significantly different among the botanical sources (Table 1). The results obtained in starches hydrolyzed at 70 and 80 °C (7.03-9.23 and 7.13-7.71 %, respectively) are higher than those reported by Maryam *et al.* (2016), who registered moisture contents below 5.16 % in starches hydrolyzed from avocado seed, without finding significant differences between the treatments employed. According to Oelayemi *et al.* (2008), the moisture content in native or modified starches should be adequately low (<12 %) to avoid agglutination and proliferation of microorganisms in materials during storage.

**Density**

The bulk density of modified starches from avocado and corn seeds is listed in Table 1. The organization of the individual starch particles makes it a porous medium, which allows establishing two types of densities; the bulk density or apparent density determines the expansion of the starches and porosity of the products. On the other hand, true density is defined as the ratio of the mass of a sample with respect to its real volume (Bala *et al.*, 2020). The density of hydrolyzed starches at 70 and 80 °C ranged around 0.73-0.76 g/mL, with no significant differences between treatments or botanical sources utilized. Bulk density is an assessment of thickness exhibited by samples, so it can be assumed that all samples presented smooth texture, so obtained materials could be used in the manufacture of cosmetics and as pharmaceutical excipients in tablets (Bala *et al.*, 2020; Ashogbon, 2014; Moreton *et al.*, 2004). On the other hand, the true density of all modified starches (0.89-0.93 g/mL at 70 °C; 0.87-0.95 g/mL at 80 °C) was higher than their respective bulk densities; these values suggest less compact materials than those reported by Manek *et al.* (2012) for native potato (*Solanum tuberosum* L.) and yellow nutsedge (*Cyperus esculentus* L.) starches (1.79 and 1.66 g/mL, respectively). It has been observed that free-flowing powders with coarse particles exhibit lower compaction characteristics, whereas fine powders settle quickly due to agitation (Bala *et al.*, 2020). In general, bulk and true density are essential features to know the powders compressibility and flow properties, essential

**Humedad**

El contenido de humedad de los almidones de semillas de aguacate regional, cv. Hass y maíz comercial tanto nativos como hidrolizados a 70 y 80 °C, variaron significativamente entre las fuentes empleadas (Tabla 1). Los resultados obtenidos en almidones hidrolizados a 70 y 80 °C (7.03 - 9.23 y 7.13 - 7.71 %, respectivamente) son superiores a los encontrados por Maryam *et al.* (2016), quienes reportaron contenidos de humedad por debajo de 5.16 % en almidones hidrolizados de semilla de aguacate, sin encontrar diferencias significativas entre los tratamientos empleados. De acuerdo con Oelayemi *et al.* (2008), el contenido de humedad en almidones nativos o modificados, debe ser lo suficientemente bajo (<12 %) para evitar el apelmazamiento y proliferación de microorganismos en el material durante su almacenamiento.

**Densidad**

La densidad aparente de los almidones modificados de semillas de aguacate y maíz se muestran en el Tabla 1. La organización de las partículas individuales de almidón lo convierten en un medio poroso, esto permite establecer dos tipos de densidades; la densidad de volumen o densidad aparente determina la expansión de los almidones y porosidad de los productos. Por otra parte, la densidad real es definida como la relación de la masa de una muestra respecto su volumen real (Bala *et al.*, 2020). La densidad de almidones hidrolizados a 70 y 80 °C oscilaron alrededor de 0.73 – 0.76 g/mL; sin diferencias significativas entre los tratamientos y las fuentes botánicas empleadas. La densidad de volumen es esencialmente, una valoración del grosor de las muestras, por lo que se puede asumir que todas las muestras presentaron textura suave por lo que podrían ser usados en la fabricación de cosméticos y como excipientes farmacéuticos en tabletas (Bala *et al.*, 2020; Ashogbon, 2014; Moreton *et al.*, 2004). Por otro lado, la densidad real de todos los almidones modificados (0.89 - 0.93 g/mL a 70 °C; 0.87 - 0.95 g/mL a 80 °C) fue mayor que sus respectivas densidades aparentes; estos valores sugieren materiales menos compactos que los reportados por Manek *et al.* (2012) para almidones nativos de papa (*Solanum tuberosum* L.) y el coquillo amarillo (*Cyperus esculentus* L.) (1.79 y 1.66 g/mL, respectivamente). Se ha observado que los polvos que fluyen libremente con partículas gruesas presentan características de compactación más bajas, mientras que los polvos finos se establecieron rápidamente debido a la agitación (Bala *et al.*, 2020). En general, la densidad aparente y real son características importantes para conocer la compresibilidad y propiedades de flujo de los polvos, atributos fundamentales en las formulaciones farmacéuticas (Moreton *et al.*, 2004).

attributes in pharmaceutical formulations (Moreton *et al.*, 2004).

#### Amylose content

The apparent amylose contents for hydrolyzed and native starches can be seen in Table 1. For native starches, the amylose content in hydrolyzed starches from avocado and corn seeds decreased significantly with increasing temperature during hydrolysis.

On applying a 70 °C temperature during the hydrolysis process, amylose content decreased by approximately 43, 28, and 19.8 % for regional avocado, Hass, and corn seed starches, respectively. As the reaction temperature increased to 80 °C, the apparent amylose content also declined to a concentration of 22.62, 18.08, and 9.80 % for the hydrolyzed regional avocado, cv. Hass and corn seed starches, respectively. This last one presented the highest degradation in terms of amylose content (62.24 %), followed by the hydrolyzed starch from regional avocado with degradation of 52.37 % and the cv. Hass with a loss of up to 44.78 %.

This phenomenon has extensively been reported by other authors, suggesting that the starches modification in the presence of acids such as HCl and H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> leads to the cleavage of the glycosidic bonds, thus altering both the structure and properties of native starches; being the amorphous regions of the starch granule more susceptible to AH than the crystalline regions (Ahmed & Auras, 2011; Dutta *et al.*, 2011; Miao *et al.*, 2011).

In agreement with Wang, L. and Wang, Y. (2001), the high degradation degree of amylose was mostly caused by applying temperatures above its gelling temperature, which triggered the swelling of the granules, exposing the linear amylose chains and promoting amylose degradation. In addition, Wang, Y. and Wang, L. (2000) propose that the AH of the amorphous region of starch may be different depending on the botanical source.

#### Dextrose Equivalent (DE) determination

AH starch products are typified based on equivalent dextrose value, which is associated with the degree of hydrolysis. The DE values obtained for hydrolyzed starches are shown in Table 1. The DE

#### Contenido de amilosa

El contenido de amilosa aparente para almidones hidrolizados y sus contrapartes nativas se muestran en el Tabla 1. Con respecto a los almidones nativos, el contenido de amilosa en almidones hidrolizados de semillas de aguacate y maíz disminuyó significativamente con el incremento de la temperatura durante la hidrólisis.

Cuando se aplicó una temperatura de 70 °C durante el proceso de hidrólisis, el contenido de amilosa disminuyó aproximadamente 43, 28 y 19.8 % para los almidones de semilla de aguacate regional, Hass y maíz, respectivamente. Al aumentar la temperatura de reacción a 80 °C, el contenido de amilosa aparente también decreció hasta una concentración de 22.62, 18.08 y 9.80 % para los almidones hidrolizados de semilla de aguacate regional, Hass y maíz, respectivamente. Siendo este último, el que presentó una mayor degradación en su contenido de amilosa (62.24 %), seguido por el almidón hidrolizado de aguacate regional con una degradación del 52.37 % y el cv. Hass con una pérdida de hasta el 44.78 %.

Este comportamiento ha sido ampliamente reportado por otros autores, quienes sugieren que la modificación de los almidones en presencia de ácidos como HCl y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> provocan la escisión de los enlaces glucosídicos, alterando así su estructura y las propiedades de los almidones nativos; siendo las regiones amorfas del granulo de almidón las más susceptibles a la AH que las regiones cristalinas (Ahmed & Auras, 2011; Dutta *et al.*, 2011; Miao *et al.*, 2011).

De acuerdo con Wang, L. y Wang, Y. (2001) el alto grado de degradación de la amilosa, se debió principalmente a la aplicación de temperaturas por encima de su temperatura de gelatinización, lo que desencadenó la hinchazón de los gránulos, dejando expuestas las cadenas lineales de la amilosa y facilitando la degradación de las mismas. Además, Wang, Y. y Wang, L. (2000) sugiere que la AH de la región amorfá del almidón puede ser distinta dependiendo de la fuente botánica.

#### Determinación de dextrosa equivalente (DE)

Los productos de AH del almidón se caracterizan por su valor de dextrosa equivalente, el cual está relacionado con el grado de hidrólisis. Los valores de DE obtenidos para almidones hidrolizados se observan en el Tabla 1. Los valores para DE en almidones hidrolizados a 70 °C, fueron 1.99, 2.14 y 2.61 para almidones de maíz, aguacate regional y cv. Hass, respectivamente, en los cuales no se observaron diferencias significativas entre las fuentes botánicas empleadas.

values for hydrolyzed starches at 70 °C were 1.99, 2.14, and 2.61 for corn, regional avocado, and cv. Hass, respectively, in which no significant difference among the botanical source, was observed.

With increasing temperature, at 80 °C, the dextrose equivalent values in regional avocado and corn starches increased to 4.26 and 4.54 DE, while in modified avocado cv. Hass seed starch this increase was minimal (2.97 DE). Despite differences, the analysis of variance shows that there were no significant differences between the sources evaluated. These values are similar to those reported by Sepelevs *et al.* (2018), in potato starch hydrolyzed with H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (3 N at 60 °C for 3 h), who observed values of 2 DE. Additionally, Montes *et al.* (2008) observed values 1-5 DE for starches of yam (*Dioscorea trifida*) enzymatically hydrolyzed with α-amylase, which, suggests that the reaction temperature is a determining factor in the degree of hydrolysis. On the other hand, these results are lower than those previously reported by Maryam *et al.* (2016) on starches hydrolyzed from avocado seed (0.15 N at 90 °C for 30 min) with values of 19.6 DE.

### Colorimetry

Color analysis of the samples highlighted

Estos valores se vieron influenciados por el incremento de la temperatura, a 80 °C, los valores de dextroso equivalente en los almidones de aguacate regional y Maíz aumentaron a 4.26 y 4.54 DE, mientras que el aumento para el almidón modificado de semillas de aguacate cv. Hass fue mínimo (2.97 DE). A pesar de las diferencias numéricas, el análisis de varianza muestra que no existieron diferencias significativas entre las fuentes evaluadas. Estos valores son similares a los encontrados por Sepelevs *et al.* (2018), en almidón de papa hidrolizado con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (3 N a 60 °C durante 3 h), quienes observaron valores de 2 DE. En otro estudio, Montes *et al.* (2008) observaron valores 1 - 5 DE para almidones de ñame (*Dioscorea trifida*) hidrolizados enzimáticamente con α-amilasa, lo cual, sugiere que la temperatura de reacción es un factor determinante sobre el grado de hidrólisis. Por otro lado, estos resultados son inferiores a los reportados previamente por Maryam *et al.* (2016) en almidones hidrolizados de semilla de aguacate (0.15 N a 90 °C durante 30 min) con valores de 19.6 DE.

### Colorimetría

El análisis de color de las muestras evidenció diferencias significativas entre los parámetros evaluados (Tabla 1). Los almidones hidrolizados a 70 °C, presentaron

**Table 1.**  
**Physicochemical properties of native and modified avocado and corn seed starches by acid hydrolysis at 70 and 80 °C.**

**Tabla 1.**  
**Propiedades fisicoquímicas de almidones de semilla de aguacate y maíz nativos y modificados mediante hidrólisis ácida a 70 y 80 °C.**

Sample	Yield (%)	Moisture (%)	Ash (%)	Apparent Density (g/mL)	True Density (g/mL)	Particle Size (μm)	Apparent Amylose (%)	Dextrose Equivalent (DE)	L*	a	b
AMN	ND	9.88 ± 0.02 <sup>c</sup>	0.10 ± 0.00 <sup>a</sup>	ND	ND	10.41 ± 0.40 <sup>b</sup>	25.96 ± 0.22 <sup>c</sup>	ND	ND	ND	ND
ARN	ND	9.23 ± 0.08 <sup>a</sup>	0.07 ± 0.01 <sup>a</sup>	ND	ND	18.35 ± 0.67 <sup>a</sup>	47.50 ± 1.23 <sup>a</sup>	ND	ND	ND	ND
AHN	ND	8.50 ± 0.19 <sup>b</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>a</sup>	ND	ND	16.59 ± 0.60 <sup>a</sup>	32.62 ± 0.34 <sup>b</sup>	ND	ND	ND	ND
M70	90.84 ± 0.28 <sup>a</sup>	7.03 ± 0.03 <sup>c</sup>	3.25 ± 0.27 <sup>a</sup>	0.74 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.92 ± 0.00 <sup>ab</sup>	20.31 ± 1.41 <sup>b</sup>	20.83 ± 0.37 <sup>c</sup>	1.99 ± 0.24 <sup>a</sup>	95.51 ± 0.05 <sup>a</sup>	-1.31 ± 0.02 <sup>c</sup>	5.42 ± 0.07 <sup>b</sup>
AR70	94.46 ± 1.67 <sup>a</sup>	9.23 ± 0.08 <sup>a</sup>	2.76 ± 0.11 <sup>a</sup>	0.73 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.89 ± 0.01 <sup>a</sup>	23.00 ± 1.61 <sup>a</sup>	27.07 ± 0.08 <sup>a</sup>	2.15 ± 0.32 <sup>a</sup>	79.93 ± 76 <sup>b</sup>	5.21 ± 0.10 <sup>a</sup>	11.05 ± 0.24 <sup>a</sup>
AH70	96.52 ± 2.56 <sup>a</sup>	8.50 ± 0.19 <sup>b</sup>	3.08 ± 0.09 <sup>a</sup>	0.74 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.93 ± 0.01 <sup>a</sup>	25.29 ± 2.37 <sup>a</sup>	23.48 ± 0.17 <sup>a</sup>	2.61 ± 0.03 <sup>a</sup>	80.77 ± 0.10 <sup>a</sup>	4.57 ± 0.05 <sup>b</sup>	11.37 ± 0.07 <sup>a</sup>
M80	98.14 ± 0.35 <sup>a</sup>	7.13 ± 0.03 <sup>b</sup>	2.53 ± 0.16 <sup>b</sup>	0.75 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.87 ± 0.01 <sup>b</sup>	15.31 ± 1.57 <sup>a</sup>	9.80 ± 0.08 <sup>b</sup>	4.54 ± 0.04 <sup>a</sup>	92.25 ± 0.06 <sup>a</sup>	-0.25 ± 0.01 <sup>c</sup>	7.84 ± 0.13 <sup>b</sup>
AR80	89.42 ± 1.78 <sup>b</sup>	7.71 ± 0.15 <sup>b</sup>	2.94 ± 0.05 <sup>b</sup>	0.74 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.94 ± 0.00 <sup>a</sup>	16.63 ± 1.10 <sup>a</sup>	22.62 ± 0.22 <sup>a</sup>	4.26 ± 0.62 <sup>a</sup>	82.35 ± 0.30 <sup>b</sup>	2.86 ± 0.03 <sup>b</sup>	9.63 ± 0.04 <sup>a</sup>
AH80	96.20 ± 0.10 <sup>a</sup>	7.35 ± 0.14 <sup>ab</sup>	3.27 ± 0.09 <sup>a</sup>	0.76 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.95 ± 0.01 <sup>a</sup>	18.57 ± 1.46 <sup>a</sup>	18.01 ± 0.30 <sup>a</sup>	2.97 ± 0.13 <sup>a</sup>	82.14 ± 0.14 <sup>b</sup>	4.52 ± 0.04 <sup>a</sup>	11.28 ± 0.06 <sup>a</sup>

\*Las letras diferentes dentro de cada columna son significativamente diferentes  $p < 0.05$ . MN: almidón nativo de maíz; ARN: almidón de semillas de aguacate regional; AHN: almidón de semillas de aguacate cv. Hass. M70, AR70, AH70: almidones de maíz, semillas de aguacate regional y cv. Hass, hidrolizados con HCl 0.15 N a 70 °C. M80, AR80, AH80: almidones de maíz, semillas de aguacate regional y cv. Hass, hidrolizados con HCl 0.15 N a 80 °C.

\*Different letters within each column are significantly different  $p < 0.05$ . MN: native corn starch; ARN: starch from regional avocado seeds; AHN: starch from avocado cv. Hass seeds. M70, AR70, AH70: starches from corn, regional and cv. Hass avocado seeds, hydrolyzed with 0.15 N HCl at 70 °C. M80, AR80, AH80: corn, regional and cv. Hass avocado seeds starches, hydrolyzed with 0.15 N HCl at 80 °C.

significant differences among the parameters evaluated (Table 1). Hydrolyzed starches at 70 °C showed a higher lightness ( $L^*$ ), suggesting whiter starches. Values of 79.93 and 80.77 were recorded for avocado starches (regional and cv. Hass, respectively); while the highest value ( $L^*= 95.51$ ) was recorded for corn hydrolyzed starch at this temperature. Despite the increase in reacting temperature (80 °C), no significant changes were recorded in starch whiteness. Similar results have been documented by Gonçalves *et al.* (2014) for hydrolyzed pine nut starches, with  $L^*$  values of 94.98.

Starch hydrolyzed from avocado seeds at 70 °C, showed positive values in  $a$  (4.57-5.21) and  $b$  (11.05-11.37) exhibiting pinkish hues, a feature describable of starches extracted from the avocado seed, as a result of seed oxidation (Maryam *et al.*, 2016). In hydrolyzed avocado starches at 80 °C, a decreased (2.86 - 4.52) as an effect of the treatment used; even,  $*L$  values increased from 79.80 to 82 in avocado seed starches. On the other hand, the modified corn starches showed a decrease in their whiteness value from 95 to 92; despite this trend, these values are higher than those recorded for avocado seed starches.

#### **Particle size and morphology**

SEM analysis evidenced changes in size (Table 1) and shape (Figure 1) of starch granules post hydrolysis process, regardless of the botanical source. The native starch granules of avocado seeds presented spherical and oval shapes, with soft and smooth surfaces, with average sizes of 16.59 and 18.35  $\mu\text{m}$  in cv. Hass and regional varieties, respectively. These results agree with what has been reported for starches in several avocado cultivars (Builders *et al.*, 2010; Chel *et al.*, 2016; Alves *et al.*, 2017) (Figure 1d, g). On the other hand, in native corn starch granules, they present polyhedral shapes, with average sizes of 10.41  $\mu\text{m}$ , which is below that reported by Bustillos *et al.* (2018) for native corn starches (13.3 - 21.4  $\mu\text{m}$ ).

For native starch granules (Figure 1 a, d, g), micrographs showed that modification by AH at 70 (Figure 1 b, e, h) and 80 °C (Figure 1 c, f, i) resulted in the loss of granular structure with the presence of larger particles with irregular shapes. The loss of the granular structure of the starch granules was attributed to gelatinization of the samples in the presence of HCl during the hydrolysis process, which resulted in the

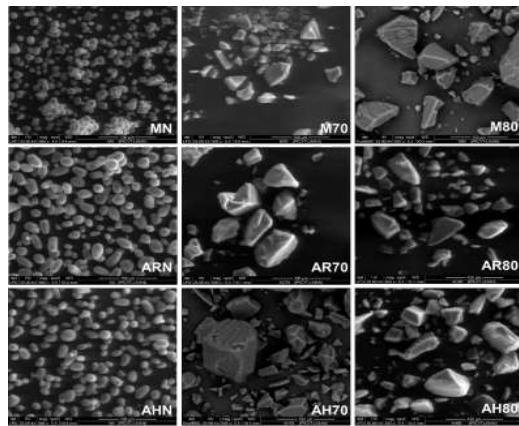
una mayor luminosidad ( $L^*$ ), sugiriendo almidones más blancos. Se registraron valores de 79.93 y 80.77 en los almidones de aguacate (regional y cv. Hass, respectivamente); mientras que el almidón hidrolizado de maíz, se registra el valor más alto ( $L^*= 95.51$ ) a dicha temperatura. A pesar del incremento en la temperatura de la reacción (80 °C) no se observaron cambios significativos en la blancura de los almidones. Resultados similares han sido registrados por Gonçalves *et al.* (2014) para almidones hidrolizados de piñón, con valores  $L^*$  de 94.98.

Los almidones hidrolizados de semillas de aguacate a 70 °C, mostraron valores positivos en  $a$  (4.57 - 5.21) y  $b$  (11.05 - 11.37) exhibiendo tonalidades rosáceas, característica describable de los almidones extraídos de la semilla de aguacate, como resultado de la oxidación de la semilla (Maryam *et al.*, 2016). En los almidones hidrolizados de aguacate a 80 °C,  $a$  disminuyó (2.86 - 4.52) como efecto del tratamiento utilizado; incluso, los valores  $*L$  incrementaron de 79 - 80 a 82 en los almidones de semillas de aguacate. Por otra parte, los almidones modificados de maíz, presentaron una disminución en su valor de blancura de 95 a 92; a pesar de este comportamiento, dichos valores son superiores a los registrados para almidones de semillas de aguacate.

#### **Morfología y tamaño de partícula**

El análisis SEM evidenció cambios en el tamaño (Tabla 1) y forma (Figura 1) de los gránulos de almidón después del proceso de hidrólisis, sin importar la fuente botánica. Los gránulos de almidón nativo de semillas de aguacate, presentaron formas esféricas y ovaladas, con superficies suaves y lisas, con tamaños promedios de 16.59 y 18.35  $\mu\text{m}$  en cultivares Hass y regional, respectivamente. Estos resultados coinciden con lo reportado para almidones diversos cultivares de aguacate (Builders *et al.*, 2010; Chel *et al.*, 2016; Alves *et al.*, 2017) (Figura 1d, g). Por otro lado, en los gránulos de almidón nativo de maíz, presentan formas poliédricas, con tamaños promedios de 10.41  $\mu\text{m}$ , lo que se encuentra por debajo de lo reportado por Bustillos *et al.* (2018) para almidones nativos de maíz (13.3 - 21.4  $\mu\text{m}$ ).

Con respecto a los gránulos de almidones nativos (Figura 1 a, d, g), las micrografías evidenciaron que la modificación por AH a 70 (Figura 1 b, e, h) y 80 °C (Figura 1 c, f, i) provocó perdida de la estructura granular con presencia de partículas de mayor tamaño con formas irregulares. La pérdida de la estructura granular de los gránulos de almidón se debió a que las muestras fueron sometidas a gelatinización en presencia del HCl durante el proceso de hidrólisis, lo que resultó en la



**Figure 1. Scanning electron microscopy micrographs of native and modified starches by acid hydrolysis at 70 and 80 °C, from avocado and corn seeds.** MN: native corn starch; ARN: starch from regional avocado seeds; AHN: starch from avocado cv. Hass seeds. M70, AR70, AH70: starches from corn, regional avocado seeds and cv. Hass avocado, hydrolyzed with 0.15 N HCl at 70 °C. M80, AR80, AH80: corn starches, regional avocado seeds and cv. Hass, hydrolyzed with 0.15 N HCl at 80 °C.

**Figura 1. Microfotografías de microscopía electrónica de barrido de almidones nativos y modificados mediante hidrólisis ácida a 70 y 80 °C, de semillas de aguacate y maíz.** MN: almidón nativo de maíz; ARN: almidón de semillas de aguacate regional; AHN: almidón de semillas de aguacate cv. Hass. M70, AR70, AH70: almidones de maíz, semillas de aguacate regional y cv. Hass, hidrolizados con HCl 0.15 N a 70 °C. M80, AR80, AH80: almidones de maíz, semillas de aguacate regional y cv. Hass, hidrolizados con HCl 0.15 N a 80 °C.

formation of irregular crystal structures (Figure 1b, c, e, f, h, i) (Putaux *et al.*, 2003). Similar results have been reported for pre-gelatinized wheat (*Triticum aestivum* L.) starches (Majzoobi *et al.*, 2011).

The micrographs in Figure 1 show that the hydrolyzed avocado seed starches exhibited larger particle sizes (~23 µm) at 70 °C; which decreased as hydrolysis temperature increased to 80 °C (16.63 - 18.57 µm, cv. Hass and regional, respectively). Similar patterns were observed for the modified corn starches, whose particle sizes were 20.31 µm and 15.31 µm at 70 and 80 °C, respectively.

Particle size differences in the hydrolyzed starches from avocado and corn seeds evaluated in this study can be derived from the amylose content of the granules in their native form and the XRD pattern. According to Kim *et al.* (2012), starches with high amylose content with type B crystallinity generate larger particle size after performing AH modification on granules, which is mainly attributed to a higher resistance to hydrolysis.

formación de estructuras en forma de cristales irregulares (Figura 1b, c, e, f, h, i) (Putaux *et al.*, 2003). Resultados similares han sido reportados para almidones pre-gelatinizados de trigo (*Triticum aestivum* L.) (Majzoobi *et al.*, 2011).

En las micrografías de la Figura 1 se puede apreciar que los almidones de semilla de aguacate hidrolizados presentaron partículas de mayor tamaño (~23 µm) a 70 °C; el cual se vio disminuido al aumentar la temperatura de hidrólisis a 80 °C (16.63 - 18.57 µm, cv. Hass y regional, respectivamente). Un comportamiento similar se observó en los almidones modificados de maíz, cuyos tamaños de partícula fueron de 20.31 µm y 15.31 µm a 70 y 80 °C, respectivamente.

Las diferencias en el tamaño de partícula de los almidones hidrolizados de semillas de aguacate y maíz evaluados en nuestro estudio, se puede atribuir al contenido de amilosa de los gránulos en su forma nativa y al patrón de XRD. De acuerdo con Kim *et al.* (2012), los almidones con alto contenido de amilosa con cristalinidad tipo B, generan partículas de mayor tamaño después de llevar a cabo la modificación de los gránulos mediante AH, esto se le atribuye principalmente a una mayor resistencia al hidrólisis.

### Fourier-Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)

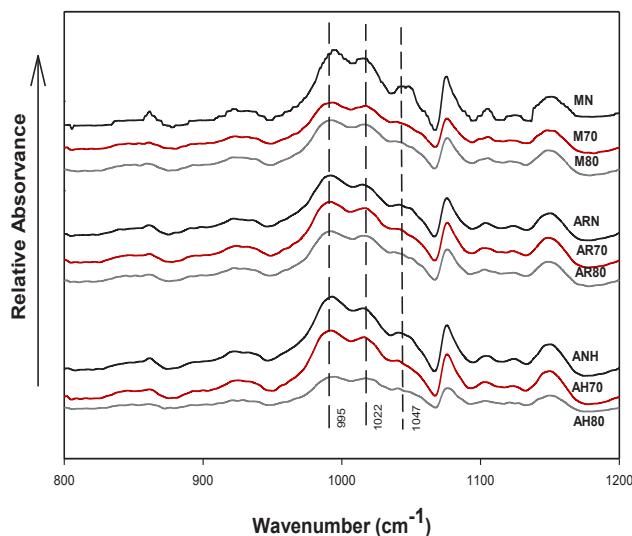
Figure 2 shows the deconvoluted FTIR spectra of native and modified starches. The FTIR spectra of native starches reveal three main bands at 1047, 1022, and 995  $\text{cm}^{-1}$ . The bands at 1047 and 1022  $\text{cm}^{-1}$  correlate to the crystalline (amylopectin) and amorphous (amylose) zones, respectively (Sevenou *et al.*, 2002); while the band at 995  $\text{cm}^{-1}$  is mainly associated with the water-associating capacity (Xia *et al.*, 2010).

After the modification process, no significant change in the intensity of the 1047  $\text{cm}^{-1}$  band was observed in the modified avocado seed starches; however, it was noted that this band presented a reduction in the hydrolyzed corn starches, thus supporting the theory of Putaux *et al.* (2003), which suggests that corn starches are more susceptible to be hydrolyzed, given that the acid initially penetrates inside the branched amylopectin molecules, being a characteristic of cereal starches that present an A-type XRD pattern. On the other hand, the band at 1022  $\text{cm}^{-1}$ , presented a decrease in its relative intensity in all the evaluated sources, this performance has been attributed to the high susceptibility of linear

### Espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR)

La Figura 2 muestra los espectros deconvolvidos de FTIR de los almidones y sus contrapartes modificadas. Los espectros FTIR de almidones nativos, revelan tres bandas principales 1047, 1022 y 995  $\text{cm}^{-1}$ . Las bandas a 1047 y 1022  $\text{cm}^{-1}$ , corresponde a las zonas cristalinas (amilopectina) y amorfas (amilosa), respectivamente (Sevenou *et al.*, 2002); mientras que la banda a 995  $\text{cm}^{-1}$  se asocia principalmente a la capacidad de asociación al agua (Xia *et al.*, 2010).

Después del proceso de modificación, no se observó ningún cambio en la intensidad de la banda 1047  $\text{cm}^{-1}$  en los almidones modificados de semillas de aguacate, sin embargo, se observa que dicha banda presentó un reducción en los almidones hidrolizados de maíz, respaldando así la teoría de Putaux *et al.* (2003), que sugiere que los almidones de maíz, son más susceptibles de ser hidrolizado, debido a que el ácido penetra de manera inicial en el interior de las moléculas ramificadas de la amilopectina, siendo una característica de los almidones de cereal que presentan un patrón de XRD tipo A. Por otra parte, la banda a 1022  $\text{cm}^{-1}$ , presentó una disminución en su intensidad relativa en todas las fuentes evaluadas, este



**Figure 2.** Deconvoluted FTIR spectra of native and modified avocado and corn seed starches by acid hydrolysis at 70 and 80 °C.

**Figura 2.** Espectros FTIR deconvolvidos de almidones de semilla de aguacate y maíz nativos y modificados mediante hidrólisis ácida a 70 y 80 °C.

molecules with  $\alpha$  (1-4) bond to the AH process (Khatoon et al., 2009). As the hydrolysis temperature increased, the intensity of the  $1022\text{ cm}^{-1}$  band decreased and an increase of the band at  $995\text{ cm}^{-1}$  is distinguished, this is a consequence of the loss of ordered structures inside the granule (Sevenou et al., 2002). According to van Soest et al. (1995) and Xia et al. (2010), the variations in the intensity of the band at  $995\text{ cm}^{-1}$  are linked to the bending vibrations of the COH bonds, which are sensitive to water content. On the other hand, the  $1022/995\text{ cm}^{-1}$  ratio has been used as an indicator of the characteristics of more hydrophilic materials (Sevenou et al., 2002) (Table 2).

Native corn starch (0.80) had a higher degree of water affinity compared to starches from cv. Hass and regional avocado seeds (0.75 and 0.77, respectively). These results are lower than those described by Sevenou et al. (2002) for native corn starch (0.98) but higher than potato starches (0.40) and high amylose corn (0.53). After modification by AH with hydrochloric acid, an increase in the ratio  $1022/995\text{ cm}^{-1}$  for all botanical sources, was observed. When the hydrolysis temperature was  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ , corn starch (0.86) presented a higher affinity for water compared to regional (0.84) and cv. Hass (0.83) avocado seed starches. In this context, avocado starches exhibit a higher level of organization in their external region, which delays hydrolysis as opposed to corn starch (Sevenou et al., 2002). Finally, when the temperature during the hydrolysis process increased from 70 to  $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ , the affinity for water did not show significant differences.

The ratios of the absorbance intensity of the  $1047/1022\text{ cm}^{-1}$  bands are shown in Table 2. This ratio indicates the level of molecular order on granule surface (crystallinity index) (Aboubakar et al., 2008). Among the native starches, corn starch presented the highest crystallinity index (0.63), followed by starches obtained from cv. Hass and regional avocado seeds (0.61 and 0.59, respectively); this characteristic is closely related to XRD patterns (Sevenou et al., 2002). After modification, a decrease in the crystallinity index is perceived, suggesting that the ordered structure of native starches was broken due to amylose degradation by HCl (Hoover, 2000).

#### X-ray Diffraction (XRD)

XRD patterns of native and hydrolyzed starches

comportamiento ha sido atribuido a la alta susceptibilidad de las moléculas lineales con enlace  $\alpha$  (1-4) al proceso de AH (Khatoon et al., 2009). A medida que aumentó la temperatura de hidrólisis, disminuyó la intensidad de la banda  $1022\text{ cm}^{-1}$  y se distingue un aumento de la banda a  $995\text{ cm}^{-1}$ , esto en función de la pérdida de las estructuras ordenadas en el interior del granulo (Sevenou et al., 2002). De acuerdo con van Soest et al. (1995) y Xia et al. (2010), las variaciones en la intensidad de la banda a  $995\text{ cm}^{-1}$  se relaciona con las vibraciones de flexión de los enlaces COH, los cuales son sensibles al contenido de agua. Por otra parte, la relación  $1022/995\text{ cm}^{-1}$  se ha utilizado como un indicador de las características de materiales más hidrofílicos (Sevenou et al., 2002) (Tabla 2).

El almidón nativo de maíz (0.80), presento un mayor grado de afinidad al agua en comparación con los almidones de semillas de aguacate cv. Hass y regional (0.75 y 0.77, respectivamente). Estos resultados son inferiores a los reportados por Sevenou et al. (2002) para almidón nativo de maíz (0.98), pero superiores a almidones de papa (0.40) y maíz alto en amilosa (0.53). Después de la modificación mediante AH con ácido clorhídrico, se observó un aumento en la relación  $1022/995\text{ cm}^{-1}$ , en todas las fuentes botánicas empleadas en nuestro estudio. Cuando la temperatura de hidrólisis fue de  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ , el almidón de maíz (0.86) presentó una mayor afinidad por el agua, en comparación con los almidones de semilla de aguacate regional (0.84) y Hass (0.83). Esto se puede atribuir a que los almidones de aguacate exhiben un mayor nivel de organización en su región externa, lo que retrasa la hidrólisis a diferencia con el almidón de maíz (Sevenou et al., 2002). Finalmente, cuando la temperatura durante el proceso de hidrólisis aumentó de 70 a  $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ , la afinidad por el agua sin presentar diferencias significativas.

Los cocientes de la intensidad de absorbancias de las bandas  $1047/1022\text{ cm}^{-1}$ , se muestran en el Tabla 2. Esta relación indica el grado del orden molecular en la superficie de los gránulos (Índice de cristalinidad) (Aboubakar et al., 2008). Dentro de los almidones nativos, el almidón de maíz presentó el mayor índice de cristalinidad (0.63), seguido por los almidones de semillas de aguacate cv. Hass y regional (0.61 y 0.59, respectivamente), esta característica, se encuentra estrechamente relacionada con los patrones de XRD (Sevenou et al., 2002). Después de la modificación, se percibe una disminución en el índice de cristalinidad, lo que sugiere que la estructura ordenada de los almidones nativos se rompió debido a la degradación de la amilosa por el HCl (Hoover, 2000).

#### Difracción de rayos X (XRD)

Los patrones de XRD de almidones nativos e hidrolizados de semillas de aguacate (regional y cv. Hass) y

from avocado (regional and cv. Hass) and corn seeds are presented in Figure 3. In general, the XRD patterns of native and hydrolyzed starches from regional avocado and cv. Hass, exhibit a B-type crystallinity pattern, with typical peaks at 15°, 17°, 19°, and 22° at the 2θ angle. Similar results to those reported by Kahn (1987) for native avocado and cv. Zutano seed starches (15°, 17°, 19° and 22° 2θ). No changes were observed in the diffraction patterns of native and hydrolyzed avocado starches; however, an increase in the crystallinity peaks at 17°, 22°, and 24° 2θ was observed in the AH-modified starches of both avocado varieties. This condition can be a consequence of the temperature used during the modification process, since the higher the temperature, the higher the degree of hydrolysis (Montes *et al.*, 2008).

On the other hand, the XRD pattern of native corn starch exhibits an A-type pattern, typical of cereal starches

maíz se muestran en la Figura 3. En general, los patrones de XRD de los almidones nativos e hidrolizados de semillas de aguacate regional y cv. Hass, muestran un patrón de cristalinidad tipo B, con picos característicos a 15°, 17°, 19° y 22° en el ángulo 2θ. Estos resultados son similares a lo reportado por Kahn (1987) para almidones nativos de semilla de aguacate cv. Zutano (15°, 17°, 19° y 22° 2θ). No se observaron cambios en los patrones de difracción de los almidones nativos e hidrolizados de aguacate, sin embargo, se aprecia un incremento de los picos de cristalinidad a 17°, 22° y 24° 2θ en los almidones modificados mediante AH de ambos cultivares de aguacate. Este comportamiento puede atribuirse a la temperatura empleada durante proceso de modificación, ya que a mayor temperatura mayor grado de hidrólisis (Montes *et al.*, 2008).

Por otra parte, el patrón de XRD del almidón de maíz nativo, exhibe un patrón tipo A, característico de los almidones de

**Table 2.**  
IR ratio of absorbance 1047/1020 cm<sup>-1</sup>, 1022/995 cm<sup>-1</sup>, and crystallinity percentage of native and modified avocado and corn seed starches by acid hydrolysis at 70 and 80 °C.

**Tabla 2.**  
Relación IR de las absorbancias 1047/1020 cm<sup>-1</sup>, 1022/995 cm<sup>-1</sup> y porcentaje de cristalinidad de almidones de semilla de aguacate y maíz nativos y modificados mediante hidrólisis ácida a 70 y 80 °C.

Sample	Ratio 1047/1022 cm <sup>-1</sup> (Crystallinity index)	Ratio 1022/995 cm <sup>-1</sup> (Water affinity)	Crystallinity (%)
MN	0.63 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.80 ± 0.01 <sup>a</sup>	27.85 ± 0.36 <sup>a</sup>
ARN	0.59 ± 0.00 <sup>b</sup>	0.77 ± 0.00 <sup>b</sup>	23.92 ± 0.54 <sup>b</sup>
AHN	0.61 ± 0.00 <sup>ab</sup>	0.75 ± 0.00 <sup>b</sup>	26.22 ± 0.61 <sup>a</sup>
M70	0.59 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.86 ± 0.01 <sup>a</sup>	24.28 ± 0.84 <sup>a</sup>
AR70	0.56 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.84 ± 0.01 <sup>ab</sup>	25.91 ± 0.34 <sup>a</sup>
AH70	0.57 ± 0.00 <sup>ab</sup>	0.83 ± 0.00 <sup>b</sup>	24.54 ± 1.08 <sup>a</sup>
M80	0.58 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.86 ± 0.01 <sup>a</sup>	24.79 ± 0.68 <sup>a</sup>
AR80	0.56 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.53 ± 0.01 <sup>b</sup>	28.80 ± 1.50 <sup>a</sup>
AH80	0.58 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.86 ± 0.01 <sup>a</sup>	30.20 ± 2.39 <sup>a</sup>

\*Las letras diferentes dentro de cada columna son significativamente diferentes  $p < 0.05$ . MN: almidón nativo de maíz; ARN: almidón de semillas de aguacate regional; AHN: almidón de semillas de aguacate cv. Hass. M70, AR70, AH70: almidones de maíz, semillas de aguacate regional y cv. Hass, hidrolizados con HCl 0.15 N a 70 °C. M80, AR80, AH80: almidones de maíz, semillas de aguacate regional y cv. Hass, hidrolizados con HCl 0.15 N a 80 °C.

\*Different letters within each column are significantly different  $p < 0.05$ . MN: native corn starch; ARN: starch from regional avocado seeds; AHN: starch from cv. Hass avocado seeds. M70, AR70, AH70: starches from corn, regional avocado seeds and cv. Hass avocado, hydrolyzed with 0.15 N HCl at 70 °C. M80, AR80, AH80: corn starches, regional avocado seeds and cv. Hass, hydrolyzed with 0.15 N HCl at 80 °C.

(15°, 17°, 18° and 23° 2θ) (Utrilla *et al.*, 2014). These peaks, decreased in intensity during the AH process, observing a decrease as reaction temperature raised. Consequently, the XRD pattern of corn changed to type B with peaks at 15°, 17°, 19°, 22° and 31° (2θ) in hydrolyzed starches at 70 and 80 °C. Although the acid attacks mainly the amorphous regions of the granule, this may be different relying on the botanical source, in terms of dimension and molecular arrangement (Wang, L. & Wang, Y., 2001). In comparison with avocado seed starches, a greater affection caused by acid on corn starch is evident, despite its low amylose content (25.96 %), so that the acid may affect the amylopectin ( $\alpha$  1-4) long chains, causing a crystallinity decrement of hydrolyzed corn starches (Biliaderis *et al.*, 1981).

Table 2 shows the percent crystallinity for native and modified starches obtained from X-ray diffractograms. Usually, the percent crystallinity correlates negatively with amylose content (Biliaderis *et al.*, 1981). In the case of native starches, the percentage crystallinity varied significantly in the following decreasing order: MN>AHN>ARN.

In general, the percentage of crystallinity tends to increase after the hydrolysis process as a function of temperature and acid exposure time as a result of the degradation of the amorphous region (Man *et al.*, 2012; Montes *et al.*, 2008; Wang, L. & Wang, Y., 2001). When avocado starch was hydrolyzed at 70 °C, a gradual increase in crystallinity from 23.92 to 28.80 % and from 26.22 to 30.20 % was observed in regional and cv. Hass avocado, respectively. This trend has been widely reported for diverse botanical sources such as jackfruit and lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn), which exhibit B-type diffraction patterns (Dutta *et al.*, 2011; Man *et al.*, 2012). Furthermore, these results are in agreement with the behavior of amylose content reported in Table 1, where a decrease in amylose content (~50 %) was observed as a result of the hydrolysis process. This is attributed to the preferential hydrolysis of the amorphous domains by the acid (Xia *et al.*, 2010).

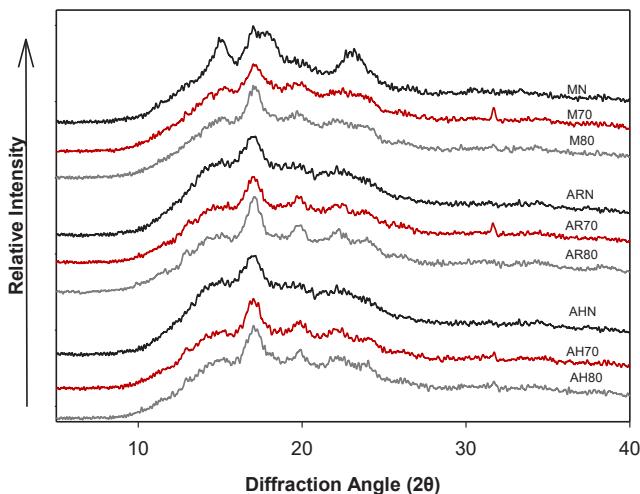
On the other hand, in an inverse pattern, the percentage of crystallinity of native corn starch decreases when hydrolyzed at 70 °C, and remains unchanged

cereales (15°, 17°, 18° y 23° 2θ) (Utrilla *et al.*, 2014). Estos picos, disminuyeron su intensidad durante el proceso de AH, observándose un decrecimiento en función del aumento de la temperatura de reacción. En consecuencia, el patrón de XRD del maíz cambió al tipo B con picos en 15°, 17°, 19°, 22° y 31° (2θ) en los almidones hidrolizados a 70 y 80 °C. A pesar de que el ácido ataca principalmente las regiones amorfas del granulo, esto puede ser distinto dependiendo de la fuente botánica, en términos de dimensión y disposición molecular (Wang, L. & Wang, Y., 2001). En comparación con los almidones de semillas de aguacate, es evidente, una mayor afectación causada por la acción de ácido sobre el almidón de maíz a pesar de su bajo contenido de amilosa (25.96 %), por lo que probablemente el ácido afectó las cadenas largas de la amilopectina ( $\alpha$  1-4), ocasionando una disminución en la cristalinidad de los almidones hidrolizados de maíz (Biliaderis *et al.*, 1981).

En el Tabla 2 se presenta el porcentaje de cristalinidad para almidones nativos y modificados obtenidos a partir de los difractogramas de rayos X. Usualmente, el porcentaje de cristalinidad se correlaciona negativamente con el contenido de amilosa (Biliaderis *et al.*, 1981). En el caso de los almidones nativos, el porcentaje de cristalinidad vario significativamente el siguiente orden decreciente: MN>AHN>ARN.

De manera general, el porcentaje de cristalinidad tiende a aumentar después del proceso de hidrólisis, en función de temperatura y tiempo de exposición al ácido como resultado de la degradación de la región amorfá (Man *et al.*, 2012; Montes *et al.*, 2008; Wang, L. & Wang, Y., 2001). Cuando el almidón de aguacate se hidrolizó a 70 °C, se observó un incremento paulatino de la cristalinidad de 23.92 a 28.80 % y de 26.22 a 30.20 % en aguacate regional y cv. Hass, respectivamente. Esta tendencia ha sido ampliamente reportada para diversas fuentes botánicas como jaca y lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn), que presentan patrones de difracción tipo B (Dutta *et al.*, 2011; Man *et al.*, 2012). Además, estos resultados están en concordancia con el comportamiento del contenido de amilosa reportado en al Tabla 1, donde se observó una disminución en el contenido de amilosa (~50 %) como resultado del proceso de hidrólisis. Esto es atribuido a la hidrólisis preferencial de los dominios amorfos por el ácido (Xia *et al.*, 2010).

Por otro lado, en un comportamiento inverso, el porcentaje de cristalinidad del almidón de maíz nativo disminuye cuando se hidroliza a 70 °C, manteniéndose sin diferencias al aumentar la temperatura de reacción a 80

**Figure 3. Diffractograms of native and hydrolyzed starches from avocado and corn seeds.****Figura 3. Difractogramas de almidones nativos e hidrolizados de semillas de aguacate y maíz.**

as the reaction temperature increases to 80 °C (27.85>24.28>24.70 % of crystallinity, respectively). This behavior in corn starches occurs as a consequence of the ring depletion in the amorphous region, the acid can act on the crystalline structures in the interior of the granule. This behavior is reflected in the X-ray diffraction patterns for starch, where it changes from type A to B after the hydrolysis process (Utrilla *et al.*, 2014).

#### Functional properties

The water absorption index (WAI) and water solubility index (WSI) are dependent on several factors, such as botanical source, amylose/amyllopectin ratio, extraction method, and thermic history of the samples (Singh & Smith, 1997). Hydrolyzed starches from all sources used in comparison with their native counterparts showed an increase in WAI and WSI values, which is largely attributed to macromolecular disorganization and degradation of starch granules during exposure to hydrochloric acid and heat treatment (Nakorn *et al.*, 2009).

For hydrolyzed starches at 70 °C, WAI changed significantly in the following decreasing order: M70>AH70>AR70; similar relationships have been reported for hydrolyzed corn and pregelatinized high amylose rice starches (Köksel *et al.*, 2007; Nakor *et al.*, 2009).

°C (27.85>24.28>24.70 % cristalinidad, respectivamente). Este comportamiento en los almidones de maíz, ocurre en consecuencia al agotamiento de los anillos en la región amorfía, el ácido puede actuar sobre las estructuras cristalinas en el interior del granulo. Este comportamiento se ve reflejado en los patrones de difracción de rayos X para el almidón, donde cambia de tipo A a B después del proceso de hidrólisis (Utrilla *et al.*, 2014).

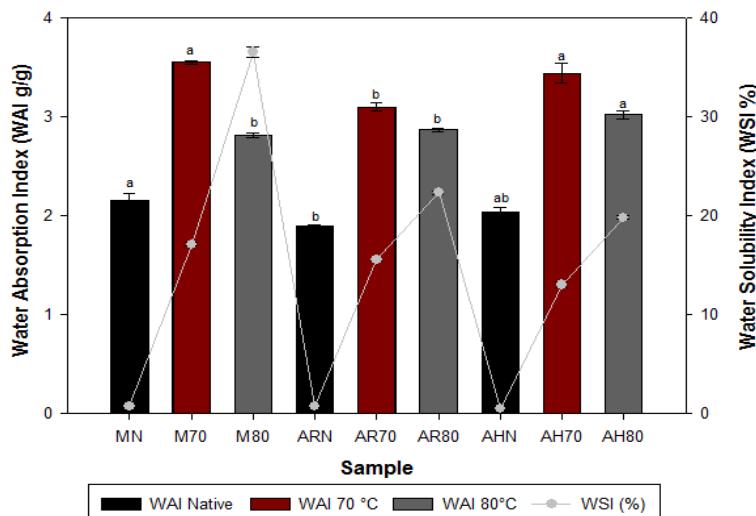
#### Propiedades funcionales

El índice de absorción de agua (WAI) e índice de solubilidad en solubilidad en agua (WSI) dependen de varios factores, como la fuente botánica, relación amilosa/amilopectina, método de extracción y el historial térmico de las muestras (Singh & Smith, 1997). Los almidones hidrolizados de todas las fuentes empleadas en comparación con sus contrapartes nativas, mostraron un aumento en los valores de WAI e WSI, lo que se atribuye, principalmente a la desorganización macromolecular y la degradación de los gránulos de almidón durante la exposición al ácido clorhídrico y el tratamiento térmico (Nakorn *et al.*, 2009).

En el caso de los almidones hidrolizados a 70 °C, el WAI vario significativamente en el siguiente orden decreciente: M70>AH70>AR70; comportamientos similares han sido reportados en almidones hidrolizados de maíz y pregelatinizados de arroz alto en amilosa (Köksel *et al.*, 2007; Nakor *et al.*, 2009).

In Figure 4, it is unmistakable that increasing the temperature during hydrolysis promoted further breakdown of the granular structure and, therefore, a decrease in the WAI of hydrolyzed starches at 80 °C was observed in starches from the three botanical sources (AH80>AR80>M80). This effect was followed by an increase in the soluble component released from the broken granules, which led to an accelerated increase in the solubility percentage of the hydrolyzed starches, showing significant differences between starches from avocado and corn seeds.

En la Figura 4, es evidente que el aumento de la temperatura durante la hidrólisis promovió una mayor ruptura de la estructura granular y, por lo tanto, se observó una disminución en el WAI de los almidones hidrolizados a 80 °C en los almidones de las tres fuentes botánicas (AH80>AR80>M80). Este efecto, fue acompañado por un aumento en el componente soluble liberado del granulo roto, lo que generó un aumento acelerado en el porcentaje de solubilidad de los almidones hidrolizados, presentando diferencias significativas entre los almidones de semillas de aguacate y maíz.



**Figure 4. Solubility and water absorption in native and AH-modified avocado and maize seed starches at 70 and 80 °C.** Values are mean ± standard deviation (n=3).

**Figura 4. Solubilidad y absorción de agua en almidones de semilla de aguacate y maíz nativos y modificados mediante AH a 70 y 80 °C.** Los valores son la media ± desviación estándar (n=3).

## Conclusions

The physicochemical, structural, and functional properties of avocado and corn seed starches gradually altered with increasing temperature, which is considered a significant factor in the hydrolysis process. After modification, the starch granules of the three botanical sources lost granular structure resulting in the formation of larger particles (agglomeration) and small polyhedral particles. The loss of granular structure due to AH at high temperatures promoted further degradation of amylose by acid and increased leaching of soluble components, resulting in increased starch crystallinity and functional properties (WAI and WSI)

## Conclusiones

Las propiedades fisicoquímicas, estructurales y funcionales de los almidones de semillas de aguacate y maíz, se alteraron gradualmente a medida que aumentaba la temperatura; lo que se considera un factor determinante en el proceso de hidrólisis. Después de la modificación, los gránulos de almidón de las tres fuentes botánicas perdieron su estructura granular resultando en la formación de partículas de mayor tamaño (aglomeración) y pequeñas partículas poliédricas. La pérdida de la estructura granular debido a la AH a altas temperaturas promovió una mayor degradación de la amilosa por el ácido y un aumento en la lixiviación de componentes solubles, lo que resultó en el aumento de la

at low temperatures. However, although hydronium ions attack mainly the amorphous regions of starch granules, in the case of corn starch, more damage was observed due to the breaking of the  $\alpha$  1-4 bonds of the amylopectin chains; substantially modifying its XRD pattern. Hydrolyzed starches from avocado seeds could be used in the non-food industry, as adhesive raw materials, paper industries, textiles, construction materials, or as a solvent mixture of ingredients in insecticides and fungicides.

### Acknowledgments

N.D.A. is grateful to the National Council of Science and Technology (CONACYT) for the fellowship granted during the Ph.D. studies in Agricultural Sciences, within the Posgrado en Ciencias Biológico Agropecuarias at the Autonomous University of Nayarit. The study was financed by Fondo Institucional de Promoción Regional para el Desarrollo Científico y de la Innovación (FORDECYT-PRONACES)-Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT-México) (Project No. 292399). We also thank the Centro de Investigacion en Alimentación y Desarrollo, Unidad Cuauhtémoc (CIAD) for the training and time granted to conduct this research.

### References

- Abbas, K., Khalil, S. K., & Hussin, A. S. M. (2010). Modified starches and their usages in selected food products: a review study. *Journal of Agricultural Science*, 2(2), 90.
- Aboubakar, N. Y., Scher, J., & Mbafung, C. (2008). Physicochemical, thermal properties and microstructure of six varieties of taro (*Colocasia esculenta L. Schott*) flours and starches. *Journal of Food Engineering*, 86(2), 294-305. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.10.006>
- Ahmed, J., & Auras, R. (2011). Effect of acid hydrolysis on rheological and thermal characteristics of lentil starch slurry. *LWT-Food Science and Technology*, 44(4), 976-983. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.08.007>
- Alves, S. I., Magnani, M., Samara, M. d. A. F., Sabino, K., de Souza Aquino, J., & Queiroga, N. V. (2017). Characterization of chemical and structural properties of native and acetylated starches from avocado (*Persea americana* Mill.) seeds. *International Journal of Food Properties*, 20(sup1), S279-S289. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1295259>
- Anderson, R. (1969). Gelatinization of corn grits by roll-and extrusion-cooking. *Cereal science today*, 14, 4-12.
- Ashogbon, A. O. (2014). Physicochemical properties of bambara groundnut starch and cassava starch blends. *African Journal of Food Science*, 8(6), 322-329, <https://doi.org/10.5897/AJFS2014.1168>
- Association of Official Analytical Chemist, Gaithersburg, (2002). <https://www.aoac.org/>
- Arns, B., Paraginski, R. T., Bartz, J., de Almeida, S. R., Elias, M. C., da Rosa, Z. E., & Dias, A. R. G. (2014). The effects of heat-moisture treatment of rice grains before parboiling on viscosity profile and physicochemical properties. *International journal of food science & technology*, 49(8), 1939-1945. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12580>
- cristalinidad de los almidones y propiedades funcionales (WAI y WSI) a baja temperatura. Sin embargo, a pesar de que los iones de hidronio atacan principalmente las regiones amorfas de los gránulos de almidón, en el caso del almidón de maíz, se observó un mayor daño debido al rompimiento de los enlaces  $\alpha$  1-4 de las cadenas de la amilopectina; modificando sustancialmente su patrón de DRX. Los almidones hidrolizados de semillas de aguacate podrían emplearse en la industria no alimentaria, como materias primas adhesivas, industrias del papel, textiles, materiales de construcción o como mezcla disolvente de ingredientes en insecticidas y fungicidas.

### Agradecimientos

N.D.A. agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada durante los estudios de Doctorado en Ciencias Agrícolas, dentro del Posgrado en Ciencias Biológico Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Nayarit. El estudio fue financiado por el Fondo Institucional de Promoción Regional para el Desarrollo Científico y de la Innovación (FORDECYT-PRONACES) - Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (México) (Proyecto No. 292399). También agradecemos al Centro de Investigacion en Alimentación y Desarrollo, Unidad Cuauhtémoc (CIAD) por la capacitación y el tiempo otorgado para realizar esta investigación.

- Bala, M., Handa, S., Mridula, D., & Singh, R. K. (2020). Physicochemical, functional and rheological properties of grass pea (*Lathyrus sativus* L.) flour as influenced by particle size. *Helijon*, 6(11), e05471. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05471>
- Beninca, C., Colman, T. A. D., Lacerda, L. G., Silva, M. A. S. F., Bannach, G., & Schnitzler, E. (2013). The thermal, rheological and structural properties of cassava starch granules modified with hydrochloric acid at different temperatures. *Thermochimica Acta*, 552, 65-69. <https://doi.org/10.1016/j.tca.2012.10.020>
- Bertolini, A. (2010). Trends in starch applications. Starches: characterization, properties, and applications. In: Taylor and Francis Group, LLC, Abingdon.
- Biliaderis, C., Grant, D., & Vose, J. (1981). Structural characterization of legume starches. II Studies on acid-treated starches. *Cereal Chem*, 58(6), 502-507.
- Builders, P. F., Nnurum, A., Mbah, C. C., Attama, A. A., & Manek, R. (2010). The physicochemical and binder properties of starch from *Persea americana* Miller (Lauraceae). *Starch-Stärke*, 62(6), 309-320. <https://doi.org/10.1002/star.200900222>
- Bustillos, R. J. C., Tirado, G. J. M., Ordoñez, G. M., Zamudio, F. P. B., Ornelas, P. J. d. J., Acosta, M. C. H., Gallegos, M. G., Páramo, C. D., & Ríos, V. C. (2018). Physicochemical, thermal and rheological properties of three native corn starches. *Food Science and Technology* (AHEAD), 39(1), 149-157. <https://doi.org/10.1590/fst.28117>
- Chel, G. L., Barbosa, M. E., Martínez, A. A., González, E., & Betancur, D. (2016). Some physicochemical and rheological properties of starch isolated from avocado seeds. *International Journal of Biological Macromolecules*, 86(1), 302-308. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.01.052>
- Corn Refiners Association. (1986). Analytical Methods of the Member Companies of the Corn Refiners Association. Inc. Washington, DC. <https://corn.org/analytical-methods/>
- Cornelia, M., & Christianti, A. (2018). Utilization of modified starch from avocado (*Persea americana* Mill.) seed in cream soup production. In IOP conference series: Earth and environmental science, 102(1), 1-8. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/102/1/012074>
- de Oliveira, C. S., Andrade, M. M. P., Colman, T. A. D., da Costa, F. J. O. G., & Schnitzler, E. (2014). Thermal, structural and rheological behaviour of native and modified waxy corn starch with hydrochloric acid at different temperatures. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 115(1), 13-18. <https://doi.org/10.1007/s10973-013-3307-9>
- Dos Santos, D. M., Ascheri, D. P. R., De Lacerda Bukzem, A., Morais, C., Piler Carvalho, C., & Ascheri, J. L. (2016). Physicochemical properties of starch from avocado seed (*Persea americana* mill). *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, 34(2). 1-12. <https://doi.org/10.5380/cp.v34i2.51302>
- Dutta, H., Paul, S. K., Kalita, D., & Mahanta, C. L. (2011). Effect of acid concentration and treatment time on acid-alcohol modified jackfruit seed starch properties. *Food chemistry*, 128(2), 284-291. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.016>
- Gonçalves, P. M., Noreña, C. P. Z., da Silveira, N. P., & Brandelli, A. (2014). Characterization of starch nanoparticles obtained from *Araucaria angustifolia* seeds by acid hydrolysis and ultrasound. *LWT-Food Science and Technology*, 58(1), 21-27. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.03.015>
- Gunning, Y.M.; Gunning, P.A.; Kemsley, E.K.; Parker, R.; Ring, S.G.; Wilson, R.H.; Blake, A. (1999). Factors affecting the release of flavor encapsulated in carbohydrate matrixes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(12), 5198-5205. <https://doi.org/10.1021/fd990039r>
- Hoover, R. (2000). Acid-treated starches. *Food reviews international*, 16(3), 369-392. <https://doi.org/10.1081/FRI-100100292>
- Kahn, V. (1987). Characterization of Starch Isolated from Avocado Seeds. *Journal of Food Science*, 52(6), 1646-1648. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1987.tb05896.x>
- Khatoon, S., Sreerama, Y., Raghavendra, D., Bhattacharya, S., & Bhat, K. (2009). Properties of enzyme modified corn, rice and tapioca starches. *Food research international*, 42(10), 1426-1433. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.07.025>
- Kim, H. Y., Lee, J. H., Kim, J. Y., Lim, W. J., & Lim, S. T. (2012). Characterization of nanoparticles prepared by acid hydrolysis of various starches. *Starch-Stärke*, 64(5), 367-373. <https://doi.org/10.1002/star.201100105>
- Köksel, H., Basman, A., Kahraman, K., & Ozturk, S. (2007). Effect of acid modification and heat treatments on resistant starch formation and functional properties of corn starch. *International Journal of Food Properties*, 10(4), 691-702. <https://doi.org/10.1080/10942910601128887>

- Liu, G., Gu, Z., Hong, Y., Cheng, L., & Li, C. (2017). Structure, functionality and applications of debranched starch: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 63, 70-79. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.03.004>
- Majzoobi, M., Radi, M., Farahnaky, A., Jamalian, J., Tongdang, T., & Mesbahi, G. H. (2011). Physicochemical properties of pre-gelatinized wheat starch produced by a twin drum drier. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 13(2), 193-202. <https://jast.modares.ac.ir/article-23-6978-en.html>
- Man, J., Cai, J., Cai, C., Xu, B., Huai, H., & Wei, C. (2012). Comparison of physicochemical properties of starches from seed and rhizome of lotus. *Carbohydrate Polymers*, 88(2), 676-683. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.01.016>
- Manek, R. V., Builders, P. F., Kolling, W. M., Emeje, M., & Kunle, O. O. (2012). Physicochemical and binder properties of starch obtained from *Cyperus esculentus*. *Aaps Pharmscitech*, 13(2), 379-388. <https://doi.org/10.1208/s12249-012-9761-z>
- Maryam, M., Kasim, A., & Santosa, S. (2016). Utilization Starch of Avocado Seed (*Persea americana* Mill.) as a Raw Material for Dextrin. *Journal of Food Science and Engineering*, 6(1), 32-37. <https://doi.org/10.17265/2159-5828/2016.01.00>
- Miao, M., Jiang, B., Zhang, T., Jin, Z., & Mu, W. (2011). Impact of mild acid hydrolysis on structure and digestion properties of waxy maize starch. *Food chemistry*, 126(2), 506-513. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.031>
- Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31(3), 426-428. <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>
- Montes, M., Salcedo, M., Zapata, M., José, E., & Paternina, U. (2008). Evaluación de las propiedades modificadas por vía enzimática del almidón de ñame (*D. trifida*) utilizando α-amilasa (Termamyl® 120 l, tipo I). *Vitae (Medellín)*, 15(1), 51-60. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0121-40042008000100007](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-40042008000100007)
- Moreton, R. C. (2004). Excipient functionality. *Pharmaceutical technology* (2003), 28(5), 98-99. <https://www.pharmtech.com/view/excipient-functionality>
- Nakorn, K. N., Tongdang, T., & Sirivongpaisal, P. (2009). Crystallinity and Rheological Properties of Pregelatinized Rice Starches Differing in Amylose Content. *Starch - Stärke*, 61(2), 101-108. <https://doi.org/10.1002/star.200800008>
- Noor, F., Rahman, M. J., Mahomud, M. S., Akter, M. S., Talukder, M. A. I., & Ahmed, M. (2014). Physicochemical properties of flour and extraction of starch from jackfruit seed. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 3(4), 347-354. <https://doi.org/10.11648/ijjnf.20140304.27>
- Olayemi, O. J., Oyi, A. R., & Allagh, T. S. (2008). Comparative evaluation of maize, rice and wheat starch powders as pharmaceutical excipients. *Nigerian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7(1), 131-138.
- Paraginski, R. T., Colussi, R., Dias, A. R. G., da Rosa Zavareze, E., Elias, M. C., & Vanier, N. L. (2019). Physicochemical, pasting, crystallinity, and morphological properties of starches isolated from maize kernels exhibiting different types of defects. *Food Chemistry*, 274, 330-336. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.026>
- Putaux, J. L., Molina, B. S., Momaur, T., & Dufresne, A. (2003). Platelet nanocrystals resulting from the disruption of waxy maize starch granules by acid hydrolysis. *Biomacromolecules*, 4(5), 1198-1202. <https://doi.org/10.1021/bm0340422>
- Rivera, G. G., Amaya, G. C. A., & de la Rosa, M. J. (2019). Physicochemical characterisation and in vitro Starch digestion of Avocado Seed Flour (*Persea americana* V. Hass) and its starch and fibrous fractions. *International journal of food science & technology*, 54(7), 2447-2457. <https://doi.org/10.1111/jifs.14160>
- Sepelevs, I., Stepanova, V., & Galoburda, R. (2018). Encapsulation of gallic acid with acid-modified low dextrose equivalent potato starch using spray-and freeze-drying techniques. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 68(3), 273-280. <https://doi.org/10.1515/pjfs-2018-0006>
- Sevenou, O., Hill, S., Farhat, I., & Mitchell, J. (2002). Organisation of the external region of the starch granule as determined by infrared spectroscopy. *International Journal of Biological Macromolecules*, 31(1-3), 79-85. [https://doi.org/10.1016/S0141-8130\(02\)00067-3](https://doi.org/10.1016/S0141-8130(02)00067-3)
- Singh, N., & Smith, A. C. (1997). A comparison of wheat starch, whole wheat meal and oat flour in the extrusion cooking process. *Journal of Food Engineering*, 34(1), 15-32. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(97\)00069-1](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(97)00069-1)
- Tesfaye, T., Johakim, J. K., Chavan, R., Sithole, B., & Ramjugernath, D. (2018a). Valorisation of mango seed via extraction of starch: preliminary techno-economic analysis. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 20(1), 81-94. <https://doi.org/10.1007/s10098-017-1457-3>

- Tesfaye, T., Gibril, M., Sithole, B., Ramjugernath, D., Chavan, R., Chunilall, V., & Gounden, N. (2018b). Valorisation of avocado seeds: extraction and characterisation of starch for textile applications. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 20(9), 2135-2154. <https://doi.org/10.1007/s10098-018-1597-0>
- Tirado, G. J., Zamudio, F. P., Ornelas, P. J. d. J., Rios, V. C., Acosta, M. C., Gutiérrez, M. F., Islas, S.H. J. J., & Salgado, D. R. (2016). Efecto del método de aislamiento y el estado de madurez en las propiedades fisicoquímicas, estructurales y reológicas de almidón de manzana. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 15(2). <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=62046829008>
- Utrilla, C. R., Hernández, J. C., Carrillo, N. H., González, F., Rodríguez, E., Bello, P. L. A., Vermon, C., & Alvarez, R. J. (2014). Acid hydrolysis of native corn starch: Morphology, crystallinity, rheological and thermal properties. *Carbohydrate Polymers*, 103, 596-602. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.01.046>
- Van Soest, J. J., Tournois, H., de Wit, D., & Vliegenthart, J. F. (1995). Short-range structure in (partially) crystalline potato starch determined with attenuated total reflectance Fourier-transform IR spectroscopy. *Carbohydrate Research*, 279, 201-214. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(95\)00270-7](https://doi.org/10.1016/0008-6215(95)00270-7)
- Velásquez, H. J. D., Lucas, A. J. C., & Quintero, C. V. D. (2017). Physical-chemical characteristics determination of potato (*Solanum phureja* Juz. & Bukasov) starch. *Acta Agronómica*, 66(3), 323-330. <http://dx.doi.org/10.1544/acag.66n3.52419>
- Wang, L., & Wang, Y. J. (2001). Structures and physicochemical properties of acid-thinned corn, potato and rice starches. *Starch-Stärke*, 53(11), 570-576. [http://doi.org/10.1002/1521-379X\(200111\)53:11<570::AID-STAR570>3.0.CO;2-S](http://doi.org/10.1002/1521-379X(200111)53:11<570::AID-STAR570>3.0.CO;2-S)
- Wang, S., & Copeland, L. (2015). Effect of acid hydrolysis on starch structure and functionality: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(8), 1081-1097. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.684551>
- Wang, Y. J., Truong, V.-D., & Wang, L. (2003). Structures and rheological properties of corn starch as affected by acid hydrolysis. *Carbohydrate Polymers*, 52(3), 327-333. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(02\)00323-5](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(02)00323-5)
- Wang, Y. J., & Wang, L. (2000). Structures and properties of commercial maltodextrins from corn, potato, and rice starches. *Starch-Stärke*, 52(8-9), 296-304. [https://doi.org/10.1002/1521-379X\(20009\)52:8/9<296::AID-STAR296>3.0.CO;2-A](https://doi.org/10.1002/1521-379X(20009)52:8/9<296::AID-STAR296>3.0.CO;2-A)
- Williams, P., Kuzina, F., & Hlynka, I. (1970). Rapid colorimetric procedure for estimating the amylose content of starches and flours. *Cereal Chemistry*, 47(1), 411-420.
- Xia, L., Wenyuan, G., Juan, W., Qianqian, J., & Luqi, H. (2010). Comparison of the morphological, crystalline, and thermal properties of different crystalline types of starches after acid hydrolysis. *Starch-Stärke*, 62(12), 686-696. <https://doi.org/10.1002/star.201000080>
- Ye, J., Liu, C., Luo, S., Hu, X., & McClements, D. J. (2018). Modification of the digestibility of extruded rice starch by enzyme treatment ( $\beta$ -amylolysis): An in vitro study. *Food Research International*, 111, 590-596. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.06.002>