

Effect of OSA modification of cacahuacintle corn starch on its physicochemical properties, digestibility and stability

Efecto de la modificación con OSA del almidón de maíz cacahuacintle sobre sus propiedades fisicoquímicas, digestibilidad y estabilidad

Diana Edith López-Vázquez; Landy Hernández-Rodríguez; Consuelo Lobato-Calleros; Eleazar Aguirre-Mandujano*

Universidad Autónoma Chapingo. Carretera México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Estado de México, C. P. 56230, MÉXICO.

*Corresponding author: eleagman@yahoo.com, tel. 595 957 0572

Abstract

Introduction: The genetic diversity and postharvest conditions of corn lead to differences in its structure, nutritional value and techno-functional properties. Such is the case of cacahuacintle corn (CC) and its starch modified with octenyl succinic anhydride (OSA), of which there are no reports.

Objective: To evaluate the effects of the chemical modification of native CC starch with OSA on its digestibility and physicochemical, morphological, structural and rheological properties.

Methodology: CC starch was extracted and modified with OSA. Its amylose content, Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) results, rheological properties, granule morphology and its effect on *in vitro* digestibility were evaluated.

Results: Chemical modification, confirmed by FTIR and morphological analysis, reduced starch digestibility and increased slowly digestible and resistant starches. Interactions between OSA-modified starch chains increased resistance to enzymatic hydrolysis. In addition, pasting and rheological properties decreased after modification.

Limitations of the study: The results are valid for CC starch from a cultivar from the State of Mexico, Mexico, and its OSA-modified version.

Originality: Information is presented on the physicochemical, techno-functional, rheological and digestibility properties of CC starch, which is a novel source of starch, both in its native and OSA-modified forms.

Conclusions: OSA-modified starch exhibited improved techno-functional and *in vitro* digestibility properties, with potential for use in the development of stable low-calorie, high-moisture foods.

Keywords: cacahuacintle corn, OSA chemical modification, rheological properties, resistant starch.

Resumen

Introducción: La diversidad genética y condiciones poscosecha del maíz conllevan a diferencias en su estructura, valor nutricional y propiedades tecnofuncionales. Tal es el caso del maíz cacahuacintle (MC) y su almidón modificado con anhídrido octenil succínico (OSA), de los cuales no hay reportes.

Objetivo: Evaluar los efectos de la modificación química con OSA del almidón de MC nativo sobre su digestibilidad y propiedades fisicoquímicas, morfológicas, estructurales y reológicas.

Metodología: Se extrajo almidón de MC y se modificó con OSA. Se evaluó su contenido de amilosa, espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), propiedades reológicas, morfología de los gránulos y su efecto sobre su digestibilidad *in vitro*.

Resultados: La modificación química, confirmada mediante FTIR y análisis morfológico, redujo la digestibilidad del almidón, e incrementó los almidones de lenta digestión y los resistentes. Las interacciones entre las cadenas del almidón modificado con OSA incrementaron la resistencia a la hidrólisis enzimática. Además, las propiedades de la pasta y las reológicas disminuyeron tras la modificación.

Limitaciones del estudio: Los resultados son válidos para el almidón de MC de un cultivar del Estado de México, México, y su versión modificada con OSA.

Originalidad: Se presenta información acerca de las propiedades fisicoquímicas, tecnofuncionales, reológicas y de digestibilidad del almidón de MC, que es una fuente novedosa de almidón, tanto en su forma nativa como modificada con OSA.

Conclusiones: El almidón modificado con OSA presentó propiedades tecnofuncionales y de digestibilidad *in vitro* mejoradas, con potencial para su uso en el desarrollo de alimentos estables con bajo contenido calórico y alta humedad.

Palabras clave: maíz cacahuacintle, modificación química OSA, propiedades reológicas, almidón resistente.



Introduction

Starch plays a key role in various industrial applications due to its low production cost, easy obtainability, and versatility. Native starches, from different botanical sources, possess unique and diverse properties, and their structure can be modified to improve their functional properties (Altuna et al., 2018; Khurshida et al., 2021).

Starch is stored as granules inside the plant seed as a reserve carbohydrate and is composed of two glucan polymers: amylose and amylopectin. Amylose is a linear molecule formed by D-glucopyranose units linked by $\alpha(1,4)$ bonds, with a degree of polymerization (DP) ranging from 500 to 6000 glucose residues (Bertoft, 2017). In contrast, amylopectin is a highly branched, large chain molecule with a DP of 3×10^5 to 3×10^6 glucose units, composed of D-glucopyranose units linked by $\alpha(1,4)$ and $\alpha(1,6)$ bonds (Wang et al., 2017).

Traditionally, the main sources of starch in the world are corn, rice, wheat, potato and cassava. Corn (*Zea mays* L.) is a cereal of great economic, social and cultural importance in the Mexican territory. Mexico is considered to be the center of origin, genetic diversity, domestication and diversification of corn, with a record of 68 native races (Caballero-García et al., 2019; López-Vásquez et al., 2020). Among them, cacahuacintle corn (CC) stands out, since its grain is characterized by being white, floury in texture and large in size, making it a key ingredient in Mexican cuisine. Several studies have shown that CC contains approximately 70.8 % starch, making it a potential source for obtaining this ingredient (Téllez-Silva et al., 2016).

Most native starches have disadvantages such as their propensity to retrograde, high viscosity, poor thermal stability, low freeze-thaw resistance, limited processing tolerance and gel opacity. These characteristics limit their use in both the food and non-food industries. To address these problems, starches must be modified (Basilio-Cortés et al., 2019; Jayakody & Hoover, 2008) by different techniques that alter their characteristics to improve their functional properties (Bajaj et al., 2019). There are several methods to increase the technological and nutritional properties of starches for use in the food industry. These include physical methods (heat-moisture, annealing and freeze-thawing), chemical methods (esterification, acidification and oxidation) and enzymatic methods (branching and branching hydrolysis) (Obadi et al., 2023).

Esterification with octenyl succinic anhydride (OSA) improves the emulsifying and amphiphilic properties of starches by replacing the hydroxyl groups of starch with hydrophobic components (López-Silva et al.,

Introducción

El almidón desempeña un papel fundamental en diversas aplicaciones industriales debido a su bajo costo de producción, fácil obtención y versatilidad. Los almidones nativos, de diferentes fuentes botánicas, poseen propiedades únicas y diversas, y su estructura puede ser modificada para mejorar sus propiedades funcionales (Altuna et al., 2018; Khurshida et al., 2021).

El almidón se almacena en forma de gránulos dentro de la semilla de la planta como carbohidrato de reserva y está compuesto por dos polímeros de glucano: amilosa y amilopectina. La amilosa es una molécula lineal formada por unidades de D-glucopiranosas unidas por enlaces $\alpha(1,4)$, con un grado de polimerización (GP) que varía entre 500 y 6000 residuos de glucosa (Bertoft, 2017). En contraste, la amilopectina es una molécula de cadena altamente ramificada y de gran tamaño, con un GP de 3×10^5 a 3×10^6 unidades de glucosa, compuesta por unidades de D-glucopiranosas unidas por enlaces $\alpha(1,4)$ y $\alpha(1,6)$ (Wang et al., 2017).

Tradicionalmente, las principales fuentes de almidón en el mundo son el maíz, el arroz, el trigo, la papa y la yuca. El maíz (*Zea mays* L.) es un cereal de gran importancia económica, social y cultural en el territorio mexicano. Se considera que México es el centro de origen, diversidad genética, domesticación y diversificación del maíz, con un registro de 68 razas nativas (Caballero-García et al., 2019; López-Vásquez et al., 2020). Entre ellas destaca el maíz cacahuacintle (MC), ya que su grano se caracteriza por ser de color blanco, textura harinosa y de tamaño grande, por lo cual es un ingrediente clave en la cocina mexicana. Varios estudios han demostrado que el MC contiene aproximadamente 70.8 % de almidón, convirtiéndolo en una fuente potencial para la obtención de dicho ingrediente (Téllez-Silva et al., 2016).

La mayoría de los almidones nativos presentan desventajas, como su propensión a retrogradarse, alta viscosidad, poca estabilidad térmica, baja resistencia a la congelación y descongelación, tolerancia limitada al procesamiento y opacidad del gel. Estas características limitan su uso tanto en la industria alimentaria como en la no alimentaria. Para abordar estos problemas, los almidones deben ser modificados (Basilio-Cortés et al., 2019; Jayakody & Hoover, 2008) mediante diferentes técnicas que alteran sus características para mejorar sus propiedades funcionales (Bajaj et al., 2019). Existen varios métodos para aumentar las propiedades tecnológicas y nutricionales de los almidones para su uso en la industria alimentaria. Entre ellos se encuentran los métodos físicos (calor-humedad, recocado y congelación-descongelación), métodos químicos (esterificación, acidificación, y oxidación) y

2020). OSA-modified starch presents a higher fraction of resistant starch, improves emulsion stabilization through the Pickering mechanism, and allows the creation of edible thin films. These properties make it a derivative with applications in the food industry (Altuna et al., 2018; Zhou et al., 2023).

The particular properties of starch are closely linked to its botanical origin and the modification methods applied, resulting in variations in the possible applications for each type of starch. Despite the importance of these factors, there is limited research focused on CC starch, and even fewer studies have delved into its chemical modification process with OSA. Considering the above, this work aimed to evaluate the effects of the modification of native CC starches with octenyl succinic anhydride (CC_{OSA}) on their physicochemical, morphological, structural, rheological and *in vitro* digestibility properties.

Materials and methods

CC samples of an endogenous variety (GC) were obtained from producers in the community of Santa María Nativitas in the municipality of Calimaya, State of Mexico, Mexico (17° 40' 00" N and 97° 20' 00" W, at 2680 m a. s. l.). The chemical reagents used for starch modification were hydrochloric acid (HCl), sodium hydroxide (NaOH) and acetone purchased from J.T. Baker®, as well as 2-octenyl-succinic anhydride (OSA) from Sigma-Aldrich®. All chemical reagents were of analytical grade. The water used for the experiments was deionized.

Starch extraction from cacahuacintle corn

CC starch was obtained from GC variety grains using the method proposed by Mir et al. (2017), with some modifications. Two hundred g of corn were immersed in 600 mL of 0.16 % (w/w) sodium metabisulfite for 24 h. Subsequently, the grains were washed with distilled water, ground in a blender (Oster 465-15, Mexico) and sifted to obtain fine flour. Subsequently, a 0.2 % (w/w) NaOH solution was added and the mixture was stirred for 4 h. The sediment was washed five times with distilled water until reaching a pH of 7. The resulting mixture was centrifuged (5810R, Eppendorf, Germany) at 5000 × g for 10 min. The resulting starch was separated and dried in a forced-air oven (HCF-62, Riossa Digital, Mexico) at 40 °C for 24 h.

Chemical modification

CC starch was modified with OSA (CC_{OSA}) using the procedure described by López-Monterrubio et al. (2023), with some modifications. Thirty g of CC was dispersed in 100 mL of deionized water and stirred continuously.

métodos enzimáticos (ramificación e hidrólisis de ramificación) (Obadi et al., 2023).

La esterificación con anhídrido octenil succínico (OSA) mejora las propiedades emulsionantes y anfífilas de los almidones, al reemplazar los grupos hidroxilo del almidón por componentes hidrofóbicos (López-Silva et al., 2020). El almidón modificado con OSA presenta una mayor fracción de almidón resistente, mejora la estabilización de emulsiones mediante el mecanismo de *Pickering* y permite la creación de películas delgadas comestibles. Estas propiedades lo convierten en un derivado con aplicaciones en la industria alimentaria (Altuna et al., 2018; Zhou et al., 2023).

Las propiedades particulares del almidón están estrechamente vinculadas con su origen botánico y con los métodos de modificación aplicados, lo cual resulta en variaciones en las posibles aplicaciones para cada tipo de almidón. A pesar de la importancia de estos factores, existen limitadas investigaciones centradas en el almidón de MC, y son aún menos los estudios que han profundizado en su proceso de modificación química con OSA. Considerando lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos de la modificación de almidones de MC nativo con anhídrido octenil succínico (MC_{OSA}) sobre sus propiedades fisicoquímicas, morfológicas, estructurales, reológicas y digestibilidad *in vitro*.

Materiales y métodos

Se obtuvieron muestras de MC de una variedad endógena (GC) de productores de la comunidad de Santa María Nativitas del municipio de Calimaya, Estado de México, México (17° 40' 00" N y 97° 20' 00" O, a 2680 m s. n. m.). Los reactivos químicos utilizados para la modificación del almidón fueron ácido clorhídrico (HCl), hidróxido de sodio (NaOH) y acetona adquiridos de J.T. Baker®, así como anhídrido 2-octenil-succínico (OSA) de Sigma-Aldrich®. Todos los reactivos químicos fueron de grado analítico. El agua utilizada para los experimentos fue desionizada.

Extracción del almidón de maíz cacahuacintle

El almidón de MC se obtuvo de los granos de la variedad GC a partir del método propuesto por Mir et al. (2017), con algunas modificaciones. Se sumergieron 200 g de maíz en 600 mL de metabisulfito de sodio al 0.16 % (p/p) durante 24 h. Posteriormente, los granos se lavaron con agua destilada, se molieron en una licuadora (Oster 465-15, México) y se tamizaron para obtener harina fina. Subsecuentemente, se añadió una solución de NaOH al 0.2 % (p/p) y se mantuvo en agitación durante 4 h. El sedimento se lavó cinco veces con agua destilada hasta alcanzar un pH de 7. La mezcla resultante se centrifugó (5810R, Eppendorf, Alemania) a 5000 × g por 10 min.

The pH of the dispersion was adjusted to 8.75 with a 0.1 N NaOH solution. Subsequently, OSA (equivalent to 3.0 % of the starch dry weight) was carefully added and maintained for 6 h at 25 °C, controlling the pH at 8.75. At the end of the reaction, the pH was neutralized with a 1 N HCl solution. The resulting mixture was centrifuged at $3410 \times g$ for 5 min, followed by two washes with deionized water and another with acetone. The OSA-modified starch was dried in an oven at 35 °C for 24 h.

Degree of substitution of modified starch

The degree of substitution (DS) of CC_{OSA} starch was determined by the titration method described by López-Silva et al. (2020), with some modifications. First, 1.25 g of CC_{OSA} starch was dispersed in 12.5 mL of a 0.1 M HCl solution with stirring for 30 min. Subsequently, the mixture was centrifuged at $3000 \times g$ for 10 min. The precipitate was washed successively with 90 % (v/v) ethanol and twice with distilled water, then suspended in 75 mL of distilled water and placed in a water bath at 90 °C for 10 min. The mixture was rapidly cooled to room temperature (using an ice bath) and titrated while stirring with a standard 0.1 M NaOH solution until reaching a pH of 8.3. CC was titrated with the same procedure to obtain the reference value. The volume of NaOH spent was used to calculate the DS using Equation 1:

$$DS = \frac{\frac{0.16AM}{W}}{1 - \left(\frac{0.21AM}{W}\right)} \quad (1)$$

where A represents the volume of NaOH required in the titration of the sample (mL), M is the molarity of the NaOH solution and W is the dry weight of the modified starch (g).

Apparent amylose

The apparent amylose content was determined by the method proposed by Zhu et al. (2008), with some modifications. First, 0.1 g of each starch sample was weighed and then dispersed in 1 mL of ethanol (96 % w/v) and 10 mL of NaOH (1 M), with constant stirring for 1 h. The dispersed starch was transferred to a volumetric flask and made up to 100 mL with distilled water. A 2 mL aliquot was taken, emptied into a flask, and 50 mL of distilled water, 100 μ L phenolphthalein (1 % w/v), 2 mL of HCl (0.1 M), and 2 mL of iodide reagent (2 g of KI and 0.2 g of iodine in 100 mL of distilled water) were added. The volume was diluted to 100 mL, and absorbance was measured at 510 and 620 nm in a spectrophotometer (Spectronic Genesys 2, Thermo Electron Corporation, USA). Measurements were performed in triplicate from a standard curve obtained with amylose and amylopectin samples.

El almidón resultante se separó y se secó en una estufa de aire forzado (HCF-62, Riossa Digital, México) a 40 °C durante 24 h.

Modificación química

El almidón de MC se modificó con OSA (MC_{OSA}) mediante el procedimiento descrito por López-Monterrubio et al. (2023), con algunas modificaciones. Se dispersaron 30 g de MC en 100 mL de agua desionizada y se agitaron de manera continua. El pH de la dispersión se ajustó a 8.75 con una solución de NaOH 0.1 N. Posteriormente, se añadió cuidadosamente OSA (equivalente al 3.0 % del peso seco del almidón) y se mantuvo durante 6 h a 25 °C, controlando el pH a 8.75. Al finalizar la reacción, se neutralizó el pH con una solución de HCl 1 N. La mezcla resultante se centrifugó a $3410 \times g$ durante 5 min, seguida de dos lavados con agua desionizada y otro con acetona. El almidón modificado con OSA se secó en un horno a 35 °C durante 24 h.

Grado de sustitución del almidón modificado

El grado de sustitución (GS) del almidón de MC_{OSA} se determinó por el método de titulación descrito por López-Silva et al. (2020), con algunas modificaciones. Se dispersaron 1.25 g de almidón de MC_{OSA} en 12.5 mL de una solución de HCl 0.1 M con agitación durante 30 min. Posteriormente, la mezcla se centrifugó a $3000 \times g$ por 10 min. El precipitado se lavó sucesivamente con etanol al 90 % (v/v) y dos veces con agua destilada; después, se suspendió en 75 mL de agua destilada y se colocó en un baño de agua a 90 °C durante 10 min. La mezcla se enfrió rápidamente a temperatura ambiente (mediante baño de hielo) y se tituló mientras se agitaba con una solución estándar de NaOH 0.1 M hasta alcanzar un pH de 8.3. Se tituló MC con el mismo procedimiento para obtener el valor de referencia. El volumen de NaOH gastado se utilizó para calcular el GS mediante la Ecuación 1:

$$GS = \frac{\frac{0.16AM}{P}}{1 - \left(\frac{0.21AM}{P}\right)} \quad (1)$$

donde A representa el volumen de NaOH requerido en la titulación de la muestra (mL), M es la molaridad de la solución de NaOH y P es el peso seco del almidón modificado (g).

Amilosa aparente

El contenido aparente de amilosa se determinó por el método propuesto por Zhu et al. (2008), con algunas modificaciones. Se pesaron 0.1 g de cada muestra de almidón, se dispersaron en 1 mL de etanol (96 % p/v) y 10 mL de NaOH (1 M), con agitación constante durante 1 h. El almidón dispersado se transfirió a

Characterization of starch granules

Size distribution

Starch granule size distribution and Sauter mean diameter ($D_{3,2}$) were determined using a Mastersizer 3000 laser diffraction particle size analyzer (Malvern Instruments, UK), equipped with a Hydro 2000 module. For this purpose, the starch samples were suspended in distilled water until they reached a shading value of 12 to 17 %. The refractive indices of water and starch were 1.33 and 1.52, respectively. The values of $D_{3,2}$ and polydispersity index (span) were calculated according to Equations 2 and 3, respectively:

$$D_{3,2} = \frac{\sum_{i=1}^k n_i D_i^3}{\sum_{i=1}^k n_i D_i^2} \quad (2)$$

$$\text{span} = \frac{d_{90} - d_{10}}{d_{50}} \quad (3)$$

where D_i represents the mean diameter of starch granules, n_i is the number of starch granules, and d_{10} , d_{50} and d_{90} correspond to the diameters at 10, 50 and 90 % of the accumulated volume, respectively (Cortés-Viguri et al., 2021).

Scanning electron microscopy

The granular morphology of the starches was studied with a scanning electron microscope (JEOL, Japan), operated at 10 kV. Each starch sample was mounted on aluminum stubs with carbon adhesive tape and coated with a gold layer. Magnifications of 250×, 1500×, and 2500× were used (Yang et al., 2019).

Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy

Starch spectrograms were obtained on an FTIR spectrometer (Cary 630, Agilent Technologies, USA), equipped with a universal attenuated total reflectance accessory. Dried starch samples (~0.01 g) were placed on the universal diamond crystal sample accessory. Scanning was carried out in the range of 4000 to 400 cm^{-1} , with a resolution of 4 cm^{-1} . The spectrograms obtained corresponded to the mean values of thirty scans (Gómez-Luría et al., 2019).

Pasting properties

The pasting properties of the starch suspensions were evaluated with a rheometer (Physica MCR 301, Anton Paar, Germany), equipped with a 50 mm diameter parallel plate geometry. Aqueous dispersions (5 % w/w) of the starches (CC and CC_{OSA}) were placed on a plate, and the geometry was set to a 0.5 mm gap. The edges of the measurement geometry were coated with silicone oil to prevent dehydration. The test protocol

un matraz volumétrico y se aforó a 100 mL con agua destilada. Se tomó una alícuota de 2 mL, se vació en un matraz, y se añadieron 50 mL de agua destilada, 100 μL de fenolftaleína (1 % p/v), 2 mL de HCl (0.1 M) y 2 mL de reactivo de yoduro (2 g de KI y 0.2 g de yodo en 100 mL de agua destilada). El volumen se diluyó hasta 100 mL, y se midió la absorbancia a 510 y 620 nm en un espectrofotómetro (Spectronic Genesys 2, Thermo Electron Corporation, EUA). Las mediciones se realizaron por triplicado a partir de una curva estándar obtenida con muestras de amilosa y amilopectina.

Caracterización de los gránulos de almidón

Distribución del tamaño

La distribución del tamaño de los gránulos de almidón y el diámetro medio de Sauter ($D_{3,2}$) se determinaron con un analizador de tamaño de partícula por difracción de láser Mastersizer 3000 (Malvern Instruments, Reino Unido), equipado con un módulo Hydro 2000. Para ello, las muestras de almidón se suspendieron en agua destilada hasta que alcanzaron un valor de oscurecimiento de 12 a 17 %. Los índices de refracción del agua y el almidón fueron 1.33 y 1.52, respectivamente. Los valores de $D_{3,2}$ y el índice de polidispersidad (span) se calcularon de acuerdo con las Ecuaciones 2 y 3, respectivamente:

$$D_{3,2} = \frac{\sum_{i=1}^k n_i D_i^3}{\sum_{i=1}^k n_i D_i^2} \quad (2)$$

$$\text{span} = \frac{d_{90} - d_{10}}{d_{50}} \quad (3)$$

donde D_i representa el diámetro medio de los gránulos de almidón, n_i es el número de gránulos de almidón, y d_{10} , d_{50} y d_{90} corresponden a los diámetros al 10, 50 y 90 % del volumen acumulado, respectivamente (Cortés-Viguri et al., 2021).

Microscopía electrónica de barrido

La morfología granular de los almidones se estudió con un microscopio electrónico de barrido (JEOL, Japón), operado a 10 kV. Cada muestra de almidón se colocó en soportes de aluminio con cinta adhesiva de carbono y se recubrió con una capa de oro. Se emplearon aumentos de 250×, 1500× y 2500× (Yang et al., 2019).

Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

Los espectrogramas de los almidones se obtuvieron en un espectrómetro FTIR (Cary 630, Agilent Technologies, EUA), equipado con un accesorio de reflectancia total atenuada universal. Las muestras de almidón secas (~0.01 g) se colocaron en el accesorio de muestras

included the application of a heating and cooling cycle at 1 Hz and 1 % strain. The temperature cycle consisted of equilibrating starch samples at 25 °C for 5 min, followed by gradual heating from 25 to 90 °C at a heating rate of 6 °C·min⁻¹. The temperature was held for 5 min; subsequently, it was cooled from 90 to 25 °C at a rate of 6 °C·min⁻¹ and held at 25 °C for 5 min (Mendez et al., 2011). Values for peak temperature, peak viscosity, final viscosity and breakdown viscosity were obtained from pasting graphs.

Rheological properties

Corn starch gels (CC and CC_{OSA}) were prepared by heating starch dispersions (5 % w/w) with magnetic stirring at 90 °C for 20 min; then, they were cooled to 25 °C (Cortés-Viguri et al., 2021). The rheological properties of the gels were evaluated as mentioned above. All experiments were performed at 25 °C, and the Physica TEK 150P system (Messtechnik, Germany) was used to maintain the temperature.

Viscoelastic properties. To determine the linear viscoelastic region, frequency sweeps were performed in a range from 0.01 to 100 Hz, with a strain of 0.1 %. Additionally, strain sweeps were performed in a range from 0.01 to 10 % at 1 Hz. The storage (G') and loss (G'') moduli were obtained using the US200/32 V.50 rheometer software (Carrillo-Navas et al., 2014).

Apparent viscosity. This was determined by varying the shear rate from 10⁻³ to 10³ s⁻¹. The experimental flow profiles are adequately described (R² > 0.99) by the Herschel-Bulkley model:

$$\tau = \tau_0 + K\dot{\gamma}^n \quad (4)$$

where τ is the shear stress (Pa), τ_0 is the yield point (Pa), K is the consistency coefficient (Pa·sⁿ), $\dot{\gamma}$ is the shear rate (s⁻¹) and n is the flow behavior index (dimensionless).

In vitro digestibility

The digestibility of starches in their native (CC) and modified (CC_{OSA}) forms was determined using the method proposed by Lee and Chang (2019), with minor modifications. Samples of 0.5 g of the starches were dispersed in 25 mL of deionized water and placed in a water bath at 37 °C with shaking for 30 min. To each sample, 0.75 mL of pancreatic α -amylase solution (30 U·mL⁻¹) was added and incubated in a water bath at 37 °C with constant shaking. Aliquots were taken at 0, 20, and 120 min to determine glucose content by the dinitrosalicylic acid method. Total starch (TS) content was determined, and starches were classified based on their hydrolysis rate: rapidly digestible starch (RDS;

universal de cristal de diamante. La exploración se llevó a cabo en el intervalo de 4000 a 400 cm⁻¹, con una resolución de 4 cm⁻¹. Los espectrogramas obtenidos correspondieron a los valores medios de treinta escaneos (Gómez-Luría et al., 2019).

Propiedades de la pasta

Las propiedades de la pasta de las suspensiones de almidón se evaluaron con un reómetro (Physica MCR 301, Anton Paar, Alemania), equipado con una geometría de placas paralelas de 50 mm de diámetro. Se colocaron dispersiones acuosas (5 % p/p) de los almidones (MC y MC_{OSA}) sobre una placa, y la geometría se colocó a un gap de 0.5 mm. Los bordes de la geometría de medición se cubrieron con aceite de silicona para evitar la deshidratación. El protocolo de prueba incluyó la aplicación de un ciclo de calentamiento y enfriamiento a 1 Hz y deformación de 1 %. El ciclo de temperaturas consistió en equilibrar muestras de almidón a 25 °C durante 5 min, seguido de un calentamiento gradual desde 25 hasta 90 °C a una velocidad de calentamiento de 6 °C·min⁻¹. La temperatura se mantuvo durante 5 min; posteriormente, se enfrió de 90 a 25 °C a una velocidad de 6 °C·min⁻¹ y se mantuvo a 25 °C durante 5 min (Mendez et al., 2011). Los valores de la temperatura pico, viscosidad máxima, viscosidad final y viscosidad de ruptura se obtuvieron a partir de las gráficas de la pasta (*pasting graphs*).

Propiedades reológicas

Se prepararon geles de almidón de maíz (MC y MC_{OSA}) mediante el calentamiento de dispersiones de almidón (5 % p/p) con agitación magnética a 90 °C por 20 min; después, se enfriaron a 25 °C (Cortés-Viguri et al., 2021). Las propiedades reológicas de los geles se evaluaron de acuerdo con lo mencionado anteriormente. Todos los experimentos se realizaron a 25 °C, y para mantener la temperatura se empleó el sistema Physica TEK 150P (Messtechnik, Alemania).

Propiedades viscoelásticas. Para determinar la región viscoelástica lineal, se realizaron barridos de frecuencia en un rango de 0.01 a 100 Hz, con una deformación de 0.1 %. Adicionalmente, se realizaron barridos de deformación en un rango de 0.01 a 10 % a 1 Hz. Los módulos de almacenamiento (G') y de pérdida (G'') se obtuvieron mediante el programa del reómetro US200/32 V.50 (Carrillo-Navas et al., 2014).

Viscosidad aparente. La viscosidad aparente se determinó al variar la tasa de corte desde 10⁻³ hasta 10³ s⁻¹. Los perfiles de flujo experimentales se describen de manera adecuada (R² > 0.99) con el modelo de Herschel-Bulkley:

digested within the first 20 min), slowly digestible starch (SDS; digested between 20 and 120 min), and resistant starch (RS; undigested after 120 min).

$$RDS = \left[\frac{0.9(G_{20}-FG)}{TS} \right] \times 100 \quad (5)$$

$$SDS = \left[\frac{0.9(G_{120}-G_{20})}{TS} \right] \times 100 \quad (6)$$

$$RS = 100 - (RDS + SDS) \quad (7)$$

Where *FG* is the free glucose content, and G_{20} and G_{120} represent the glucose content released after 20 and 120 min, respectively.

Statistical analysis

All experiments were performed in triplicate under a completely randomized design. Data were expressed as the mean \pm standard deviation. Analysis of variance was performed and, where applicable, Tukey's range test ($P \leq 0.05$). Statistical analysis was performed using Statgraphics Plus software (Statistical Graphics Corp., Manugistics, Inc., USA).

Results and discussion

Amylose, amylopectin content and degree of substitution

Table 1 shows the amylose and amylopectin content, and DS. Amylose and amylopectin content varies according to botanical origin, resulting in different amylose/amylopectin ratios (Obadi et al., 2023). A significant decrease in amylose content was observed in CC_{OSA} , in comparison with CC. This behavior is consistent with other studies that have reported a reduction in amylose content after modification with OSA (López-Monterrubio et al., 2023; Yao et al., 2024). Some studies have revealed that esterification occurs mainly in the amorphous region of starch, which is generally composed of amylose (Gao et al., 2021). Moreover, during the starch modification process, the granule surface expands slightly to allow the attachment of octenyl succinate groups, which could lead to the leaching of amylose molecules and, consequently, the reduction of amylose content after modification (Yao et al., 2024). On the other hand, the amylopectin content in CC_{OSA} (77.80 ± 0.01 %) was significantly higher than that presented by CC (72.60 ± 0.02 %). This finding reflects the compensatory relationship between both major starch components.

OSA starches are obtained by the esterification reaction between the hydroxyl groups of starch and OSA. In this context, a commonly used parameter is the DS, which represents the average number of octenyl succinate derivatives per glucose unit (Sweedman et al., 2013).

$$\tau = \tau_0 + K\dot{\gamma}^n \quad (4)$$

donde τ es el esfuerzo cortante (Pa), τ_0 es el punto de cedencia (Pa), K es el coeficiente de consistencia ($\text{Pa}\cdot\text{s}^n$), $\dot{\gamma}$ es la tasa de corte (s^{-1}) y n es el índice de comportamiento de flujo (adimensional).

Digestibilidad in vitro

La digestibilidad de los almidones en su forma nativa (MC) y modificada (MC_{OSA}), se llevó a cabo mediante el método propuesto por Lee y Chang (2019), con pequeñas modificaciones. Se dispersaron muestras de 0.5 g de los almidones en 25 mL de agua desionizada y se colocaron en un baño de agua a 37 °C con agitación por 30 min. A cada muestra se le adicionaron 0.75 mL de solución de α -amilasa pancreática ($30 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$) y se incubaron en un baño de agua a 37 °C con agitación constante. Se tomaron alícuotas a los 0, 20 y 120 min para determinar el contenido de glucosa por el método del ácido dinitrosalicílico. Se determinó el contenido total de almidón (AT), y los almidones se clasificaron con base en su tasa de hidrólisis: almidón de rápida digestión (ARD; digerido dentro de los primeros 20 min), almidón de lenta digestión (ALD; digerido entre los 20 y 120 min) y almidón resistente (AR; no digerido después de 120 min).

$$ARD = \left[\frac{0.9(G_{20}-GL)}{TS} \right] \times 100 \quad (5)$$

$$ALD = \left[\frac{0.9(G_{120}-G_{20})}{AT} \right] \times 100 \quad (6)$$

$$AR = 100 - (ARD + ALD) \quad (7)$$

Donde GL es el contenido de glucosa libre, y G_{20} y G_{120} representan el contenido de glucosa liberada después de 20 y 120 min, respectivamente.

Análisis estadístico

Todos los experimentos se realizaron por triplicado bajo un diseño completamente aleatorizado. Los datos se expresaron como la media \pm desviación estándar. Se llevó a cabo un análisis de varianza y, en los casos aplicables, una comparación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó en el programa Statgraphics Plus (Statistical Graphics Corp., Manugistics, Inc., EUA).

Resultados y discusión

Contenido de amilosa, amylopectina y grado de sustitución

El Cuadro 1 muestra el contenido de amilosa, amylopectina y el GS. El contenido de amilosa y amylopectina varía según el origen botánico, lo

Table 1. Amylose, amylopectin content and degree of substitution of native (CC) and octenyl succinic anhydride modified (CC_{OSA}) cacahuacintle corn starch.**Cuadro 1. Contenido de amilosa, amilopectina y grado de sustitución de almidón de maíz cacahuacintle nativo (MC) y modificado con anhídrido octenil succínico (MC_{OSA}).**

Type of starch/ Tipo de almidón	Amylose (%)/ Amilosa (%)	Amylopectin (%)/ Amilopectina (%)	Degree of substitution/ Grado de sustitución
CC/MC	27.40 ± 0.38 a	72.60 ± 0.02 b	-
CC _{OSA} /MC _{OSA}	22.20 ± 0.09 b	77.80 ± 0.01 a	0.017 ± 0.005

Data are expressed as the mean ± standard deviation. Means with the same letters within each column do not differ statistically (Tukey, $P \leq 0.05$).

Los datos son expresados como la media ± desviación estándar. Medias con letras iguales dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Tukey, $P \leq 0.05$).

The DS for CC_{OSA} starch was 0.017 ± 0.005 , slightly higher than that reported by Lopez-Silva et al. (2020) in normal OSA-modified corn starch (0.0112 ± 0.001). This variation may be due to the higher amylose content in CC. Previous studies revealed that esterification with OSA is a complex process influenced by amylose content, particle size and molecular structure, and whose reaction occurs mainly in the amorphous region of starch (Simsek et al., 2015).

OSA substitution can occur at carbons 2, 3 and 6 of the glucose molecule. When starch is modified with OSA, its normally hydrophilic nature acquires hydrophobic behavior (octenyl groups), resulting in molecules with amphiphilic character. This change is well known because it improves emulsification properties and can be used as an emulsifier in food systems (Sweedman et al., 2013; Zhang et al., 2017).

Starch granule size distribution

Table 2 shows the $D_{3,2}$ and diameters at 10, 50 and 90 % of the cumulative distribution of starch granules (CC and CC_{OSA}). CC_{OSA} granules showed a significantly higher $D_{3,2}$ ($16.80 \pm 0.10 \mu\text{m}$) compared to their native counterpart ($14.26 \pm 0.06 \mu\text{m}$). These results are supported by the cumulative volumes d_{10} , d_{50} and d_{90} , which were higher in the CC_{OSA} starch. The increase in size can be attributed to the reaction with OSA on the surface of the granules, which caused significant changes in their surface structure and, therefore, in their size (Bajaj et al., 2019). Furthermore, this increase could be the result of aggregation effects induced by changes in the amphiphilic nature of the OSA-modified starches, which coincides with the findings reported by Lopez-Silva et al. (2019).

The span value was significantly higher in CC_{OSA}, being 4.8 times larger than that of CC. This finding is related to a broader particle size distribution, which could be explained by the greater tendency of starch granules to agglomerate (Domene-López et al., 2019). CC granules showed a unimodal distribution (Figure 1A(1)), with the highest peak at $14.39 \pm 0.03 \mu\text{m}$. CC_{OSA} granules, on the

cual resulta en diferentes proporciones de amilosa/amilopectina (Obadi et al., 2023). Se observó una disminución significativa en el contenido de amilosa en MC_{OSA}, en comparación con MC. Este comportamiento es consistente con otros estudios que han reportado reducción en el contenido de amilosa tras la modificación con OSA (López-Monterrubio et al., 2023; Yao et al., 2024). Algunos estudios han revelado que la esterificación ocurre principalmente en la región amorfa del almidón, que generalmente está compuesta de amilosa (Gao et al., 2021). Además, durante el proceso de modificación del almidón, la superficie del gránulo se expande ligeramente para permitir la unión de los grupos octenilsuccinato, lo cual podría provocar la lixiviación de las moléculas de amilosa y, consecuentemente, la reducción del contenido de amilosa después de la modificación (Yao et al., 2024). Por otro lado, el contenido de amilopectina en MC_{OSA} ($77.80 \pm 0.01 \%$) fue significativamente mayor que el presentado por el MC ($72.60 \pm 0.02 \%$). Este hallazgo refleja la relación compensatoria entre ambos componentes principales del almidón.

Los almidones OSA se obtienen mediante la reacción de esterificación entre los grupos hidroxilo del almidón y el OSA. En este contexto, un parámetro utilizado comúnmente es el GS, que representa el número promedio de derivados del octenilsuccinato por unidad de glucosa (Sweedman et al., 2013). El GS para el almidón MC_{OSA} fue de 0.017 ± 0.005 , ligeramente mayor al reportado por López-Silva et al. (2020) en almidón de maíz normal modificado con OSA (0.0112 ± 0.001). Esta variación se puede deber al mayor contenido de amilosa en el MC. Estudios previos revelaron que la esterificación con OSA es un proceso complejo influenciado por el contenido de amilosa, el tamaño de partícula y la estructura molecular, y cuya reacción ocurre principalmente en la región amorfa del almidón (Simsek et al., 2015).

La sustitución con OSA puede ocurrir en los carbonos 2, 3 y 6 de la molécula de glucosa. Cuando el almidón se modifica con OSA, su naturaleza normalmente hidrofílica adquiere un comportamiento hidrofóbico (grupos octenilo), lo cual resulta en moléculas con carácter anfifílico. Este cambio es bien conocido debido

Table 2. Sauter mean diameter ($D_{3,2}$), and granule diameters at 10, 50 and 90 % of the cumulative distribution.**Cuadro 2. Diámetro medio de Sauter ($D_{3,2}$), y diámetros de los gránulos en el 10, 50 y 90 % de la distribución acumulativa.**

Starch/Almidón	d_{10} (μm)	d_{50} (μm)	d_{90} (μm)	$D_{3,2}$ (μm)	span
CC/MC	9.73 ± 0.01 b	15.23 ± 0.06 b	23.43 ± 0.06 b	14.26 ± 0.06 b	0.90 ± 0.01 b
CC _{OSA} /MC _{OSA}	10.33 ± 0.06 a	17.13 ± 0.13 a	88.43 ± 0.40 a	16.80 ± 0.10 a	4.33 ± 0.06 a

CC: native cacahuacintle corn starches; CC_{OSA}: starches modified with octenyl succinic anhydride; span: polydispersity index. Data are expressed as the mean \pm standard deviation. Means with the same letters within each column do not differ statistically (Tukey, $P \leq 0.05$).

MC: almidones de maíz cacahuacintle en su forma nativa; MC_{OSA}: almidones modificados con anhídrido octenil succínico; span: índice de polidispersidad. Los datos son expresados como la media \pm desviación estándar. Medias con letras iguales dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Tukey, $P \leq 0.05$).

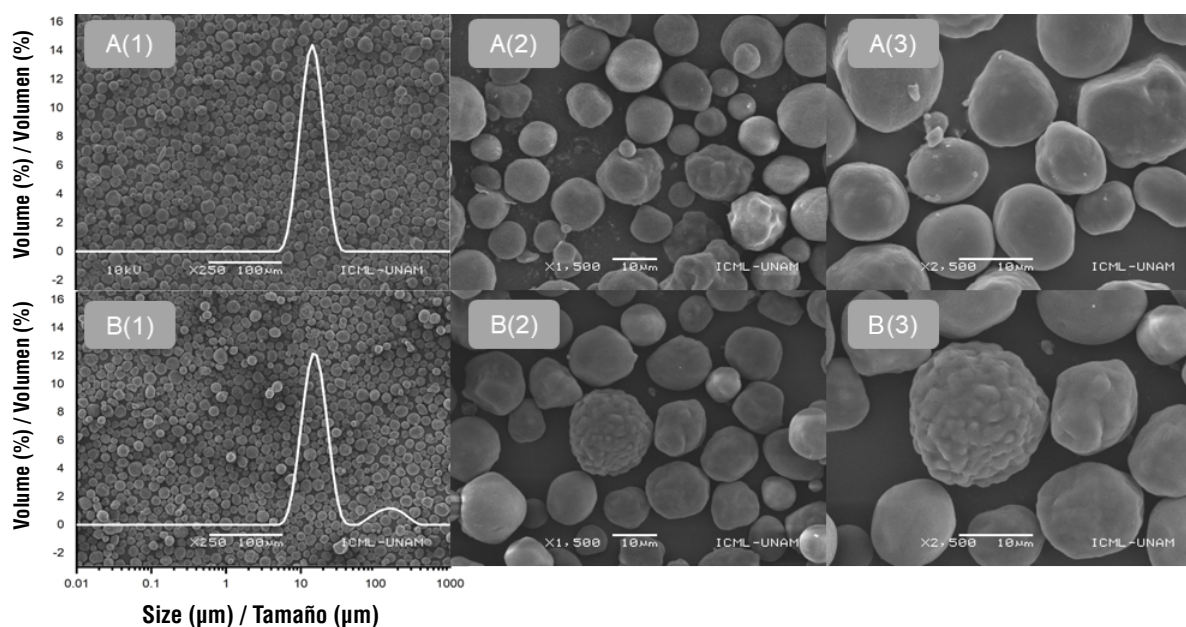


Figure 1. Micrographs and size distribution of starch granules: A) cacahuacintle corn (CC) starch and B) cacahuacintle corn starch modified with octenyl succinic anhydride (CC_{OSA}). Magnifications: (1) 250 \times , (2) 1500 \times and (3) 2500 \times .

Figura 1. Micrografías y distribución de tamaño de gránulos de almidón: A) almidón de maíz cacahuacintle (MC) y B) almidón de maíz cacahuacintle modificado con anhídrido octenil succínico (MC_{OSA}). Magnificaciones: (1) 250 \times , (2) 1500 \times y (3) 2500 \times .

other hand, showed a bimodal distribution (Figure 1B(1)), with a large peak at $15.02 \pm 0.01 \mu\text{m}$ and a small one at $158.73 \pm 0.03 \mu\text{m}$.

Starch granule morphology

Figure 1 shows the micrographs of starch granules (CC and CC_{OSA}). According to the images, modification with OSA produced significant changes in starch shape and surface. CC granules exhibited mainly spherical shapes, although some had more oval or cylindrical shapes. Morphological variations are influenced by the corn genotype and by a less rigid protein matrix in the floury endosperm, such as that of CC (Timm et al., 2020).

The surface of CC granules was mostly smooth, although some were slightly rough (Figure 1A(3)). However, OSA modification significantly altered the morphology of

a que mejora las propiedades de emulsificación y puede ser utilizado como emulsionante en sistemas alimentarios (Sweedman et al., 2013; Zhang et al., 2017).

Distribución del tamaño de los gránulos de almidón

En el Cuadro 2 se muestra el $D_{3,2}$ y los diámetros en el 10, 50 y 90 % de la distribución acumulativa de los gránulos de los almidones (MC y MC_{OSA}). Los gránulos del MC_{OSA} mostraron un $D_{3,2}$ significativamente mayor ($16.80 \pm 0.10 \mu\text{m}$) en comparación con su homólogo nativo ($14.26 \pm 0.06 \mu\text{m}$). Estos resultados se respaldan con los volúmenes acumulativos d_{10} , d_{50} y d_{90} , los cuales fueron mayores en el almidón del MC_{OSA}. El incremento en el tamaño se puede atribuir a la reacción con OSA en la superficie de los gránulos, lo cual provocó cambios significativos en su estructura superficial y, por ende, en su tamaño (Bajaj et al., 2019). Además, este aumento

the starch granules, exhibiting rougher surfaces with more pronounced depressions and less defined edges (Figure 1B(3)). This is possibly the result of esterification reactions or mild hydrolysis during preliminary NaOH treatment. The protrusions presented by the CC_{OSA} granules are probably related to the aggregation of OSA-esterified amylose chains concentrated on the granule surface (Lopez-Silva et al., 2019). This suggests that the reaction occurred mainly on the surface and not inside the granules (Xu et al., 2023).

FTIR analysis

The infrared spectra of the starches (CC and CC_{OSA}) are presented in Figure 2. The formation of carboxylate groups was confirmed by this technique. It can be seen that native and modified starch have similar profiles. A broad peak is detected in the range of 3500 to 3000 cm^{-1} , which is related to the presence of starch hydroxyl groups (O-H). The peaks at 2930 and 2880 cm^{-1} are attributed to the antisymmetric and symmetric stretching vibration of aliphatic groups CH_2 and CH_3 , and be attributed to free fatty acids (Wei et al., 2020). The band in the range of 1700 to 1600 cm^{-1} is related to the amide I group, suggesting the presence of protein on the surface of starch granules. The fingerprint of starches is presented in the most prominent peak between 1100 and 920 cm^{-1} , where a stretching of the C-O bond was observed (Lu et al., 2019).

podría ser el resultado de efectos de agregación inducidos por los cambios en la naturaleza anfifílica de los almidones modificados con OSA, lo que coincide con lo reportado por López-Silva et al. (2019).

El valor de span fue significativamente mayor en MC_{OSA} , al ser 4.8 veces más grande que el de MC. Este hallazgo está relacionado con una distribución más amplia de tamaño de las partículas, lo cual se podría explicar por la mayor tendencia de los gránulos de almidón a aglomerarse (Domene-López et al., 2019). Los gránulos de MC mostraron una distribución unimodal (Figura 1A(1)), con su mayor pico en $14.39 \pm 0.03\ \mu\text{m}$. Por su parte, los gránulos de MC_{OSA} presentaron una distribución bimodal (Figura 1B(1)), con un pico grande en $15.02 \pm 0.01\ \mu\text{m}$ y uno pequeño en $158.73 \pm 0.03\ \mu\text{m}$.

Morfología de los gránulos de almidón

La Figura 1 muestra las micrografías de los gránulos de los almidones (MC y MC_{OSA}). De acuerdo con las imágenes, la modificación con OSA produjo cambios significativos en la forma y superficie del almidón. Los gránulos de MC exhibieron, principalmente, formas esféricas, aunque algunos presentaron formas más ovaladas o cilíndricas. Las variaciones morfológicas están influenciadas por el genotipo del maíz y por una matriz proteica menos rígida en el endospermo harinoso, como la que presenta el MC (Timm et al., 2020).

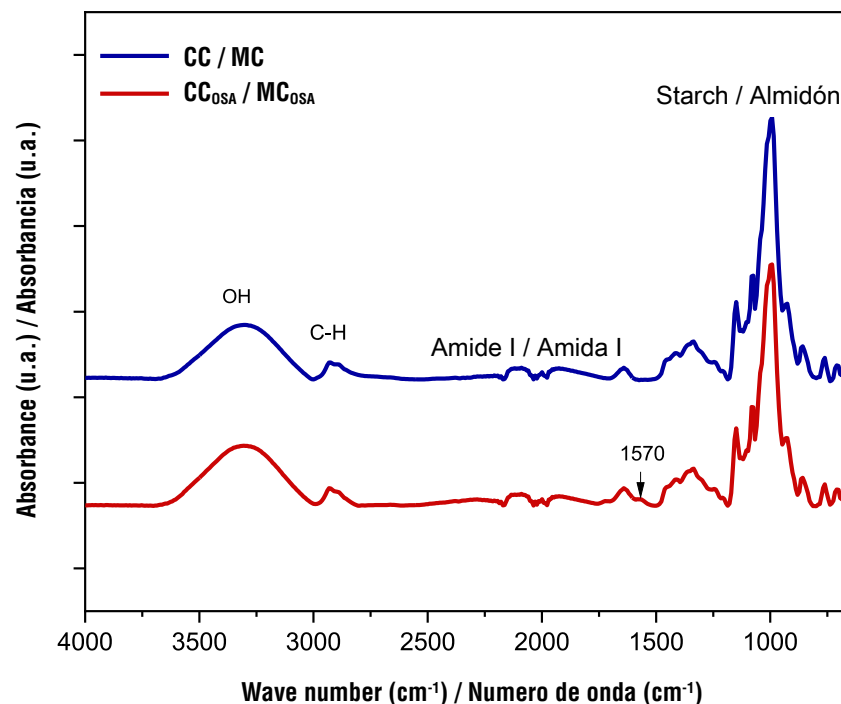


Figure 2. FTIR spectrum of native (CC) and octenyl succinic anhydride modified (CC_{OSA}) cacahuacintle corn starch.
Figura 2. Espectro FTIR del almidón de maíz cacahuacintle nativo (MC) y modificado con anhídrido octenil succínico (MC_{OSA}).

Compared to native starch, modified starch showed an absorption band at 1570 cm^{-1} , attributed to the asymmetric stretching vibration of the carboxyl group (COOH) or the carboxylate group (COO⁻), due to the formation of sodium octenyl succinate starch in alkaline reaction systems. FTIR spectra confirmed the modification and evidenced the ability of the succinyl group to esterify the starch chains (Romero-Hernández et al., 2021). They also support the efficacy of the OSA modification process in altering starch properties, suggesting its potential application in various areas of the food industry.

Pasting properties

The paste profiles of the starches (CC and CC_{OSA}) are shown in Figure 3, and the parameter values are presented in Table 3. It can also be seen that chemical modification alters the pasting characteristics and functional properties of starch due to structural changes.

The temperature at which viscosity begins to increase is called the pasting temperature (PT). The PTs of CC and CC_{OSA} coincided with the gelatinization temperatures (data not shown). It can be seen that CC_{OSA} presented a lower PT ($60.90\text{ }^{\circ}\text{C}$) than CC ($66.50\text{ }^{\circ}\text{C}$) (Table 3). This indicates that the incorporation of the octenyl succinate group alters the ordered structure of the modified starch, which facilitates water penetration and swelling of the granules at lower temperatures

La superficie de los gránulos del MC fue principalmente lisa, aunque algunos eran ligeramente rugosos (Figura 1A(3)). Sin embargo, la modificación con OSA alteró significativamente la morfología de los gránulos de almidón, al presentar superficies más rugosas con depresiones más pronunciadas y bordes menos definidos (Figura 1B(3)). Posiblemente, esto es el resultado de las reacciones de esterificación o de una hidrólisis leve durante el tratamiento preliminar con NaOH. Las protuberancias que presentaron los gránulos del MC_{OSA} están, probablemente, relacionadas con la agregación de cadenas de amilosa esterificadas con OSA concentradas en la superficie del gránulo (López-Silva et al., 2019). Esto sugiere que la reacción ocurrió, principalmente, en la superficie y no en el interior de los gránulos (Xu et al., 2023).

Análisis FTIR

Los espectros de infrarrojo de los almidones (MC y MC_{OSA}) se presentan en la Figura 2. La formación de grupos carboxilato se confirmó por esta técnica. Se puede observar que el almidón nativo y el modificado tienen perfiles similares. En el rango de $3500\text{ a }3000\text{ cm}^{-1}$ se detecta un pico ancho, el cual está relacionado con la presencia de grupos hidroxilo del almidón (O-H). Los picos a $2930\text{ y }2880\text{ cm}^{-1}$ se atribuyen a la vibración de estiramiento antisimétrico y simétrico de los grupos alifáticos CH₂ y CH₃, y se pueden atribuir a los ácidos grasos libres (Wei et al., 2020). La

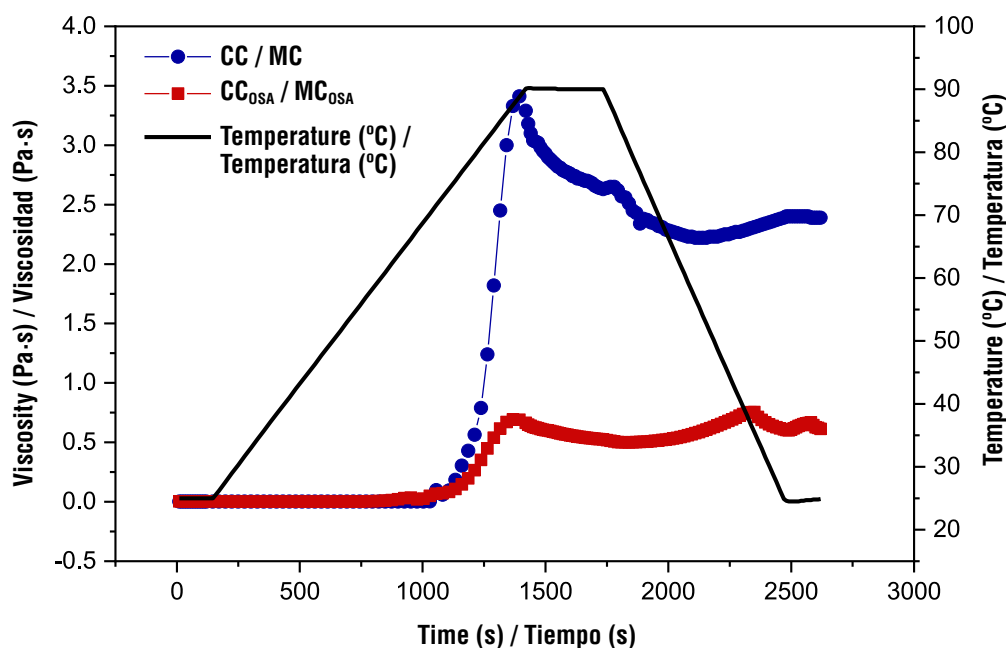


Figure 3. Profile of native (CC) and octenyl succinic anhydride modified (CC_{OSA}) cacahuacintle corn starch paste.

Figura 3. Perfil de la pasta de almidón de maíz cacahuacintle nativo (MC) y modificado con anhídrido octenil succínico (MC_{OSA}).

Table 3. Property parameters of native (CC) and octenyl succinic anhydride modified (CC_{OSA}) cacahuacintle corn starch paste. Cuadro 3. Parámetros de las propiedades de la pasta de almidón de maíz cacahuacintle nativo (MC) y modificado con anhídrido octenil succínico (MC_{OSA}).

Type of starch/ Tipo de almidón	Pasting temperature (°C) / Temperatura de la pasta (°C)	Peak viscosity (Pa·s) / Viscosidad pico (Pa·s)	Breakdown viscosity (Pa·s) / Viscosidad de ruptura (Pa·s)	Final viscosity (Pa·s) / Viscosidad final (Pa·s)	Setback viscosity (Pa·s) / Viscosidad de retroceso (Pa·s)
CC/MC	66.50 ± 1.13 a	3.41 ± 0.09 a	1.18 ± 0.13 a	2.54 ± 0.21 a	0.31 ± 0.02 a
CC _{OSA} /MC _{OSA}	60.90 ± 0.99 b	0.50 ± 0.01 b	0.19 ± 0.11 b	0.61 ± 0.17 b	0.11 ± 0.01 b

Data are expressed as the mean ± standard deviation. Means with the same letters within each column do not differ statistically (Tukey, $P \leq 0.05$).

Los datos son expresados como la media ± desviación estándar. Medias con letras iguales dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Tukey, $P \leq 0.05$).

(López-Monterrubio et al., 2023). This is in accordance with the reports of Bello-Flores et al. (2014), where they establish that chemical modification with OSA of *Musa paradisiaca* starch increases paste viscosity and produces a decrease in PT.

The magnitude of the peak viscosity of CC starch was much higher than that of CC_{OSA}. The chemical modification revealed in FTIR and structural changes limited the amorphous region of the granules to trap water and, consequently, a lower peak viscosity was presented (Salazar-Irrazabal et al., 2023). The breakdown viscosity of the starches varied between 0.19 and 1.18 Pa·s, where the highest value was presented by CC, indicating that this starch had greater stability than those modified with OSA. Núñez-Bretón et al. (2024) point out that this behavior is due to a restructuring of its fractions and a greater rearrangement of the polymeric matrix. Likewise, the final viscosity of CC_{OSA} was significantly lower than that of CC. Won et al. (2017) found a similar trend in OSA-modified potato starch when compared to its native counterpart.

Apparent viscosity

Figure 4 shows typical apparent viscosity curves as a function of shear rate for 5 % starch gels. A similar shear thinning behavior is observed for both gels (CC and CC_{OSA}); that is, the viscosity decreases as the shear rate increases. This behavior is associated with an alignment of the biopolymer molecules at the applied shear rate, which modifies their original conformation and the biopolymer-biopolymer interactions are disrupted, thereby decreasing the interaction strength between the flow layers (Cortés-Viguri et al., 2021). It can be seen that CC presented the highest viscosity values throughout the shear rate range.

The experimental flow profiles showed an adequate correlation ($R^2 > 0.98$) with the Herschel-Bulkley model (Table 4). The n values obtained for the starches were between 0.16 and 0.59, indicating that both presented pseudoplastic behavior ($n < 1$), although it was

banda en el rango de 1700 a 1600 cm^{-1} está relacionada con el grupo amida I, lo cual sugiere la presencia de proteína en la superficie de los gránulos de almidón. La huella digital de los almidones se presenta en el pico más prominente entre 1100 y 920 cm^{-1} , donde se apreció un estiramiento del enlace C–O (Lu et al., 2019).

En comparación con el almidón nativo, el almidón modificado mostró una banda de absorción a 1570 cm^{-1} , atribuida a la vibración de estiramiento asimétrico del grupo carboxilo (COOH) o del grupo carboxilato (COO⁻), debido a la formación del almidón de otenilsuccinato de sodio en los sistemas de reacción alcalina. Los espectros FTIR confirmaron la modificación y evidenciaron la capacidad del grupo succinilo para esterificar las cadenas de almidón (Romero-Hernández et al., 2021). Además, respaldan la eficacia del proceso de modificación con OSA para alterar las propiedades del almidón, lo cual sugiere su potencial aplicación en diversas áreas de la industria de alimentos.

Propiedades de la pasta

Los perfiles de la pasta de los almidones (MC y MC_{OSA}) se muestran en la Figura 3, y los valores de los parámetros se presentan en el Cuadro 3. Se puede identificar que la modificación química altera las características de la pasta y las propiedades funcionales del almidón debido a cambios estructurales.

La temperatura en la cual la viscosidad comienza a aumentar se llama temperatura de la pasta (TP). Las TP de MC y MC_{OSA} coincidieron con las temperaturas de gelatinización (datos no mostrados). Se puede observar que MC_{OSA} presentó una TP más baja (60.90 °C) que MC (66.50 °C) (Cuadro 3). Esto indica que la incorporación del grupo octenilsuccinato altera la estructura ordenada del almidón modificado, lo cual facilita la penetración del agua y la hinchazón de los gránulos a temperaturas más bajas (López-Monterrubio et al., 2023). Lo anterior está acorde con los reportes de Bello-Flores et al. (2014), donde establecen que la modificación química con OSA de almidón de *Musa paradisiaca* incrementa la viscosidad de la pasta y produce una disminución de la TP.

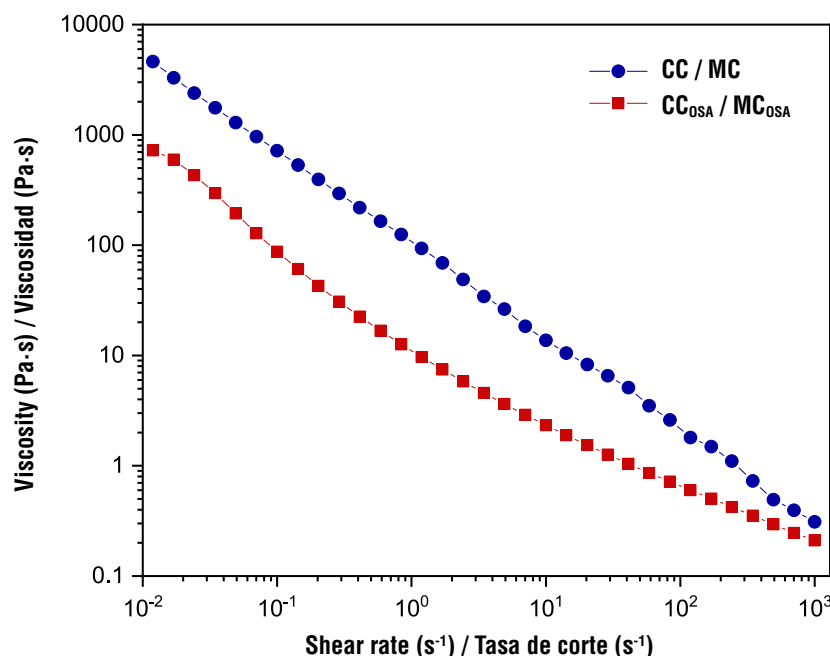


Figure 4. Flow curves of native (CC) and octenyl succinic anhydride modified (CC_{OSA}) cacahuacintle corn starch gels.

Figura 4. Curvas de flujo de los geles de almidón de maíz cacahuacintle nativo (MC) y modificado con anhídrido octenil succínico (MC_{OSA}).

Table 4. Rheological parameters of the Herschel-Bulkley model.

Cuadro 4. Parámetros reológicos del modelo de Herschel-Bulkley.

Type of starch/ Tipo de almidón	τ_0 (Pa)	K (Pa·s ⁿ)	n
CC/MC	3.85 ± 0.25 b	99.19 ± 0.71 a	0.16 ± 0.01 b
CC_{OSA}/MC_{OSA}	8.12 ± 0.28 a	3.66 ± 0.19 b	0.59 ± 0.02 a

CC: native cacahuacintle corn starches; CC_{OSA} : octenyl succinic anhydride modified starches. Data are expressed as the mean ± standard deviation. Means with the same letters within each column do not differ statistically (Tukey, $P \leq 0.05$).

MC: almidones de maíz cacahuacintle en su forma nativa; MC_{OSA} : almidones modificados con anhídrido octenil succínico. Los datos son expresados como la media ± desviación estándar. Medias con letras iguales dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Tukey, $P \leq 0.05$).

significantly lower with the CC. The magnitude of K of the CC was significantly higher (99.19) than that of CC_{OSA} (3.66); that is, the CC was more structured in the dispersed phase and presented higher viscosities in the shear rate range studied (Marboh & Mahanta, 2023).

Mechanical spectrum

Changes in storage (G') and loss (G'') moduli as a function of frequency for CC and CC_{OSA} gels are shown in Figure 5. The magnitudes of G' of CC were relatively higher than those of G'' , suggesting that the gels exhibited more elastic than viscous behavior. The storage modulus of CC increased over the entire frequency range, indicating the formation of interconnected networks resembling elastic gels. However, CC_{OSA} gels exhibited regular increases in G' and G'' at frequency values below 25 Hz, while

La magnitud de la viscosidad pico del almidón de MC fue mucho mayor que la del MC_{OSA} . La modificación química revelada en FTIR y los cambios estructurales limitaron la región amorfa de los gránulos para atrapar agua y, en consecuencia, se presentó una menor viscosidad máxima (Salazar-Irrazabal et al., 2023). La viscosidad de ruptura de los almidones varió entre 0.19 y 1.18 Pa·s, donde el valor más alto lo presentó MC, lo cual indica que este almidón tuvo una mayor estabilidad que los modificados con OSA. Núñez-Bretón et al. (2024) mencionan que este comportamiento se debe a que existe una reestructuración de sus fracciones y un mayor rearrreglo de la matriz polimérica. Asimismo, la viscosidad final del MC_{OSA} fue significativamente menor que la del MC. Won et al. (2017) encontraron una tendencia similar en almidón de papa modificado con OSA al compararlo con su contraparte nativa.

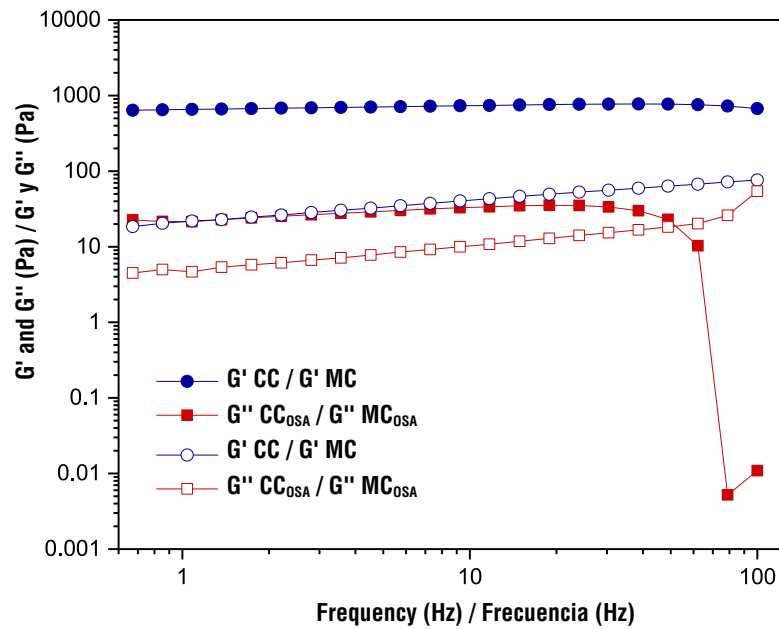


Figure 5. Mechanical spectra of native (CC) and octenyl succinic anhydride modified (CC_{OSA}) cacahuacintle corn starch gels.
Figura 5. Espectros mecánicos de los geles de almidón de maíz cacahuacintle nativo (MC) y modificado con anhídrido octenil succínico (MC_{OSA}).

at higher values there was a gradual decrease up to 65 Hz, a frequency at which G' decreased dramatically, accompanied by a change from elastic to viscous character. OSA modification of starch had a significant effect on the consistency of the gels. Zhang et al. (2021) point out that octenyl succinate groups in starch can modify its hydrophobicity by weakening intramolecular hydrogen bonds, as more hydroxyl groups interact with water molecules, which limits interactions in the amylose chain and reduces gel strength. This is more evident as the DS increases.

In vitro digestibility

Table 5 shows the digestibility percentage of the starches (CC and CC_{OSA}). As can be seen, the ARD fraction decreased significantly in CC_{OSA} (45.65 ± 0.50 %) compared to CC (66.7 ± 0.59 %). This reduction is mainly due to the substitution of OH groups by bulky octenyl succinate groups in the starch structure, which limits the accessibility of digestive enzymes, such as amylase, to the interior of the starch granule. Yao et al. (2020) obtained similar results and reported that modification with OSA has a positive effect by decreasing the ARD fraction.

In contrast to CC, CC_{OSA} starch exhibited a significant increase in its SDS content. This variation in the digestibility profile is attributed to the structural rearrangement of the starch granule, since the octenyl succinate groups formed act as steric barriers, which hinders the access of the enzymes amyloglucosidase and pancreatic alpha amylase to the glycosidic bonds,

Viscosidad aparente

En la Figura 4 se presentan las curvas típicas de viscosidad aparente en función de la tasa de corte de los geles de almidón al 5 %. Se observa un comportamiento de adelgazamiento al corte similar para ambos geles (MC y MC_{OSA}); es decir, la viscosidad disminuye a medida que aumenta la tasa de corte. Este comportamiento está asociado con una alineación de las moléculas del biopolímero a la tasa de corte aplicada, lo cual modifica su conformación original y las interacciones biopolímero-biopolímero se interrumpen, con lo cual disminuye la fuerza de interacción entre las capas del flujo (Cortés-Viguri et al., 2021). Se puede observar que el MC presentó los valores de viscosidad más altos en todo el rango de tasa de corte.

Los perfiles de flujo experimentales presentaron una adecuada correlación ($R^2 > 0.98$) con el modelo de Herschel-Bulkley (Cuadro 4). Los valores de n obtenidos para los almidones se encuentran entre 0.16 y 0.59, lo cual indica que ambos presentaron un comportamiento pseudoplástico ($n < 1$), aunque fue significativamente menor con el MC. La magnitud de K del MC fue significativamente superior (99.19) que el de MC_{OSA} (3.66); es decir, el MC estaba más estructurado en la fase dispersa y presentó viscosidades más altas en el rango de tasa de corte estudiado (Marboh & Mahanta, 2023).

Espectro mecánico

Los cambios en los módulos de almacenamiento (G') y de pérdida (G'') en función de la frecuencia de los geles de

Table 5. *In vitro* digestibility of native (CC) and octenyl succinic anhydride modified (CC_{OSA}) cacahuacintle corn starch.**Cuadro 5. Digestibilidad *in vitro* del almidón de maíz cacahuacintle nativo (MC) y modificado con anhídrido octenil succínico (MC_{OSA}).**

Type of starch/ Tipo de almidón	RDS (%)/ ARD (%)	SDS (%)/ ALD (%)	RS (%)/ AR (%)
CC/MC	66.74 ± 0.59 a	14.85 ± 0.37 b	21.74 ± 0.02 b
CC _{OSA} /MC _{OSA}	45.65 ± 0.50 b	25.86 ± 0.09 a	28.49 ± 0.05 a

RDS: rapidly digestible starch; SDS: slowly digestible starch; RS: resistant starch. Data are expressed as the mean ± standard deviation. Means with the same letters within each column do not differ statistically (Tukey, $P \leq 0.05$).

ARD: almidón de rápida digestión; ALD: almidón de lenta digestión; AR: almidón resistente. Los datos son expresados como la media ± desviación estándar. Medias con letras iguales dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Tukey, $P \leq 0.05$).

and, consequently, the digestion rate decreases (Zhang et al., 2017). Likewise, a significant increase in RS content in MC_{OSA} was observed, compared to CC. This increase in RS is nutritionally relevant, since this component acts as dietary fiber by modulating the postprandial glycemic response. Modification with OSA has proven to be an effective strategy to increase RS content, which opens new perspectives for the development of functional foods with metabolic health benefits (Zhang et al., 2017).

Due to its low digestibility, CC_{OSA} starch is suitable for applications in specialty food systems, such as slow-digesting baked foods and controlled release systems for bioactive compounds (Cortés-Viguri et al., 2021; Shi et al., 2022).

Conclusions

Cacahuacintle corn starch, both in its native form and modified with OSA, exhibits distinct physicochemical, structural and rheological characteristics. Modification with OSA significantly decreased amylose content and increased amylopectin content. In addition, it affected the morphological and structural properties of starch granules by increasing granule size, presenting a bimodal particle size distribution and showing significant changes in starch granule surface morphology. *In vitro* digestibility showed a reduction in rapidly digestible starch, as well as an increase in slowly digestible starch and resistant starch in CC_{OSA}, compared to its native form.

Acknowledgments

The authors would like to thank the *Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología* (CONAHCyT; National Council of Humanities, Science and Technology) for its support in carrying out graduate studies.

End of English version

MC y MC_{OSA} se muestran en la Figura 5. Las magnitudes de G' del MC fueron relativamente superiores a las de G'', lo cual sugiere que los geles presentaron un comportamiento más elástico que viscoso. El módulo de almacenamiento del MC incrementó en todo el rango de frecuencia, lo que indicó la formación de redes interconectadas parecidas a geles elásticos. Sin embargo, los geles del MC_{OSA} presentaron aumentos regulares de G' y G'' en valores de frecuencias menores a 25 Hz, mientras que en valores superiores hubo una disminución gradual hasta 65 Hz, frecuencia en la cual G' disminuyó drásticamente, acompañado de un cambio de carácter elástico a viscoso. La modificación con OSA del almidón tuvo un efecto significativo en la consistencia de los geles. Zhang et al. (2021) señalan que los grupos octenilsuccinato en el almidón pueden modificar su hidrofobicidad, al debilitar los puentes de hidrógeno intramoleculares, ya que una mayor cantidad de grupos hidroxilo interactúan con moléculas de agua, lo cual limita las interacciones en la cadena de amilosa y reduce la fuerza del gel. Lo anterior es más evidente a medida que incrementa el GS.

Digestibilidad *in vitro*

El Cuadro 5 muestra el porcentaje digestibilidad de los almidones (MC y MC_{OSA}). Como se puede observar, la fracción de ARD disminuyó significativamente en el MC_{OSA} (45.65 ± 0.50 %) en comparación con el MC (66.7 ± 0.59 %). Dicha reducción se debe, principalmente, a la sustitución de grupos OH por grupos voluminosos de octenilsuccinato en la estructura del almidón, lo cual limita la accesibilidad de las enzimas digestivas, como la amilasa, al interior del gránulo de almidón. Yao et al. (2020) obtuvieron resultados similares e informaron que la modificación con OSA tiene un efecto positivo al disminuir la fracción de ARD.

En contraste con el MC, el almidón MC_{OSA} exhibió un incremento significativo en su contenido de ALD. Esta variación en el perfil de digestibilidad se atribuye a la reordenación estructural del gránulo de almidón, ya que la formación de grupos octenilsuccinato actúan

References / Referencias

- Altuna, L., Herrera, M. L., & Foresti, M. L. (2018). Synthesis and characterization of octenyl succinic anhydride modified starches for food applications. A review of recent literature. *Food Hydrocolloids*, 80, 97-110. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.01.032>
- Bajaj, R., Singh, N., & Kaur, A. (2019). Properties of octenyl succinic anhydride (OSA) modified starches and their application in low fat mayonnaise. *International Journal of Biological Macromolecules*, 131, 147-157. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.054>
- Basilio-Cortés, U. A., González-Cruz, L., Velázquez, G., Teniente-Martínez, G., Gómez-Aldapa, C. A., Castro-Rosas, J., & Bernardino-Nicanor, A. (2019). Effect of dual modification on the spectroscopic, calorimetric, viscosimetric and morphological characteristics of corn starch. *Polymers*, 11(2), 333. <https://doi.org/10.3390/polym11020333>
- Bello-Flores, C. A., Nuñez-Santiago, M. C., Martín-Gonzalez, M. F. S., BeMiller, J. N., & Bello-Pérez, L. A. (2014). Preparation and characterization of octenylsuccinylated plantain starch. *International Journal of Biological Macromolecules*, 70, 334-339. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.06.061>
- Bertoft, E. (2017). Understanding starch structure: recent progress. *Agronomy*, 7(3), 56. <https://doi.org/10.3390/agronomy7030056>
- Caballero-García, M. A., Córdova-Téllez, L., & López-Herrera, A. D. J. (2019). Validación empírica de la teoría multicéntrica del origen y diversidad del maíz en México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 42(4), 357-366. <https://revfitotecnia.mx/index.php/RFM/article/view/58/1169>
- Carrillo-Navas, H., Hernández-Jaimes, C., Utrilla-Coello, R. G., Meráz, M., Vernon-Carter, E., & Álvarez-Ramírez, J. (2014). Viscoelastic relaxation spectra of some native starch gels. *Food Hydrocolloids*, 37, 25-33. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.10.023>
- Cortés-Viguri, V., Hernández-Rodríguez, L., Lobato-Calleros, C., Cuevas-Bernardino, J. C., Hernández-Rodríguez, B. E., Alvarez-Ramirez, J., & Vernon-Carter, E. J. (2021). Annatto (*Bixa orellana* L.), a potential novel starch source: antioxidant, microstructural, functional, and digestibility properties. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16(1), 637-651. <https://doi.org/10.1007/s11694-021-01228-7>
- Domene-López, D., García-Quesada, J. C., Martín-Gullon, I., & Montalbán, M. G. (2019). Influence of starch composition and molecular weight on physicochemical properties of biodegradable films. *Polymers*, 11(7), 1084. <https://doi.org/10.3390/polym11071084>
- Gao, W., Sui, J., Liu, P., Cui, B., & El-Aty, A. A. (2021). Synthetic mechanism of octenyl succinic anhydride modified corn starch based on shells separation pretreatment. *International Journal of Biological Macromolecules*, 172, 483-489. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.01.082>
- Gómez-Luría, D., Vernon-Carter, E., Alvarez-Ramirez, J., & Cruz-Sosa, F. (2019). Insights of the ability of gelatinized fractions from non-chemical modified corn, rice, wheat, and waxy corn starches to stabilize O/W emulsions. como barreras estéricas, lo cual dificulta el acceso de las enzimas amiloglucosidasa y alfa amilasa pancreática a los enlaces glucosídicos, y, en consecuencia, la velocidad de digestión disminuye (Zhang et al., 2017). Asimismo, se evidenció un incremento significativo en el contenido de AR en el MC_{OSA}, en comparación con el MC. Este aumento en el AR es relevante a nivel nutricional, ya que este componente actúa como fibra dietética al modular la respuesta glucémica postprandial. La modificación con OSA ha demostrado ser una estrategia efectiva para incrementar el contenido de AR, lo que abre nuevas perspectivas para el desarrollo de alimentos funcionales con beneficios para la salud metabólica (Zhang et al., 2017).
- Debido a su baja digestibilidad, el almidón MC_{OSA} es adecuado para aplicaciones en sistemas alimentarios especiales, como alimentos horneados de digestión lenta y sistemas de liberación controlada de compuestos bioactivos (Cortés-Viguri et al., 2021; Shi et al., 2022).

Conclusiones

El almidón de maíz cacahuacintle, tanto en su forma nativa como modificado con OSA, presenta características fisicoquímicas, estructurales y reológicas distintas. La modificación con OSA disminuyó significativamente el contenido de amilosa y aumentó el contenido de amilopectina. Además, afectó las propiedades morfológicas y estructurales de los gránulos de almidón, al aumentar el tamaño de los gránulos, presentar una distribución bimodal en el tamaño de partícula y mostrar cambios significativos en la morfología de la superficie de los gránulos de almidón. En la digestibilidad *in vitro*, se observó una reducción del almidón de rápida digestión, así como un aumento en el almidón de lenta digestión y almidón resistente en el MC_{OSA}, en comparación con su forma nativa.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCyT) por el apoyo para realizar los estudios de posgrado.

Fin de la versión en español

Food Hydrocolloids, 89, 726-734. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.11.045>

Jayakody, L. N., & Hoover, R. (2008). Effect of annealing on the molecular structure and physicochemical properties of starches from different botanical origins – A review. *Carbohydrate Polymers*, 74(3), 691-703. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.04.032>

Khurshida, S., Das, M., Deka, S. C., & Sit, N. (2021). Effect of dual modification sequence on physicochemical, pasting,

- rheological and digestibility properties of cassava starch modified by acetic acid and ultrasound. *International Journal of Biological Macromolecules*, 188, 649-656. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.08.062>
- Lee, Y. K., & Chang, Y. H. (2019). Structural and *in vitro* digestibility properties of esterified maca starch with citric acid and its application as an oil-in-water (O/W) pickering emulsion stabilizer. *International Journal of Biological Macromolecules*, 134, 798-806. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.05.081>
- López-Monterrubio, D., Lobato-Calleros, C., Vernon-Carter, E., & Alvarez-Ramírez, J. (2023). *In vitro* digestibility and physicochemical properties of huauzontle (*Chenopodium nuttalliae*) starch. *Starch*, 75(5-6). <https://doi.org/10.1002/star.202200206>
- López-Silva, M., Bello-Pérez, L. A., Agama-Acevedo, E., & Alvarez-Ramírez, J. (2019). Effect of amylose content in morphological, functional and emulsification properties of OSA modified corn starch. *Food Hydrocolloids*, 97, 105212. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105212>
- López-Silva, M., Bello-Pérez, L. A., Castillo-Rodríguez, V. M., Agama-Acevedo, E., & Alvarez-Ramírez, J. (2020). *In vitro* digestibility characteristics of octenyl succinic acid (OSA) modified starch with different amylose content. *Food Chemistry*, 304, 125434. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125434>
- López-Vásquez, V. M., Salinas-Moreno, Y., Alemán-de la Torre, I., Morales-Hernández, N., & Bautista-Ramírez, E. (2020). Effect of adding anthocyanins to blue maize dough on color, texture and antioxidant capacity of maize tortillas. *Ingeniería Agrícola y Biosistemas*, 12(2), 183-200. <https://doi.org/10.5154/r.inagbi.2020.07.040>
- Lu, Z., Donner, E., & Liu, Q. (2019). The effect of various extracting agents on the physicochemical and nutritional properties of pea starch. *Starch*, 71(11-12). <https://doi.org/10.1002/star.201900123>
- Marboh, V., & Mahanta, C. L. (2023). Rheological and textural properties of sohphlang (*Flemingia vestita*) starch gels as affected by heat moisture treatment and annealing. *Food Chemistry Advances*, 3, 100542. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100542>
- Mendez-Montevalvo, G., Wang, Y. J., & Campbell, M. (2011). Thermal and rheological properties of granular waxy maize mutant starches after isoamylase modification. *Carbohydrate Polymers*, 83(4), 2011-2015. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.11.011>
- Mir, S. A., Bosco, S. J. D., Bashir, M., Shah, M. A., & Mir, M. M. (2017). Physicochemical and structural properties of starches isolated from corn cultivars grown in Indian temperate climate. *International Journal of Food Properties*, 20(4), 821-832. <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1184274>
- Núñez-Bretón, L. C., Torres-González, C. E., del Ángel-Zumaya, J. A., Peredo-Lovillo, A., Rivera-Villanueva, J. M., de Jesús Perea-Flores, M., Guzmán-Gerónimo, R. I., Manero, O., & González-Jiménez, F. E. (2024). Functionalization of starches from Mexican *Oxalis tuberosa* using dual chemical modification. *Food Hydrocolloids*, 149, 109500. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109500>
- Obadi, M., Qi, Y., & Xu, B. (2023). High-amylose maize starch: Structure, properties, modifications and industrial applications. *Carbohydrate Polymers*, 299, 120185. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.120185>
- Romero-Hernández, H. A., Sánchez-Rivera, M. M., Alvarez-Ramírez, J., Yee-Madeira, H., Yáñez-Fernández, J., & Bello-Pérez, L. A. (2021). Avocado oil encapsulation with OSA-esterified taro starch as wall material: Physicochemical and morphology characteristics. *LWT-Food Science & Technology*, 138, 110629. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110629>
- Salazar-Irrazabal, M. D., Ramírez-Tixe, E. E., Velásquez-Barreto, F. F., & Bello-Pérez, L. A. (2023). Avocado seed starch: Effect of the variety on molecular, physicochemical, and digestibility characteristics. *International Journal of Biological Macromolecules*, 247, 125746. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.125746>
- Shi, C., Zhu, S., Du, C., Zhong, F., Huang, D., & Li, Y. (2022). Octenylsuccinic anhydride group distribution in esterified maize starches with different granular structure and its effect on starch digestibility. *Food Bioscience*, 50, 102056. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.102056>
- Simsek, S., Ovando-Martínez, M., Marefati, A., Sj, M., & Rayner, M. (2015). Chemical composition, digestibility and emulsification properties of octenyl succinic esters of various starches. *Food Research International*, 75, 41-49. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.05.034>
- Sweedman, M. C., Tizzotti, M., Schäfer, C., & Gilbert, R. G. (2013). Structure and physicochemical properties of octenyl succinic anhydride modified starches: A review. *Carbohydrate Polymers*, 92(1), 905-920. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.09.040>
- Téllez-Silva, J. M., Herrera-Tapia, F., Vizcarra-Bordi, I., & Ramírez-Hernández, J. J. (2016). El maíz cacahuacintle y su potencial para el desarrollo endógeno. *Especialidades*, 6(1), 167-191. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=419548242007>
- Timm, N. S., Ramos, A. H., Ferreira, C. D., Biduski, B., Eicholz, E. D., & Oliveira, M. (2020). Effects of drying temperature and genotype on morphology and technological, thermal, and pasting properties of corn starch. *International Journal of Biological Macromolecules*, 165, 354-364. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.09.197>
- Wang, C., Fu, X., Tang, C., Huang, Q., & Zhang, B. (2017). Octenylsuccinate starch spherulites as a stabilizer for Pickering emulsions. *Food Chemistry*, 227, 298-304. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.092>
- Wei, H. X., Liang, B. D., Chai, Y. R., Xue, L. P., Wang, X. Q., & Yin, X. M. (2020). Effect of different heat treatments on physicochemical properties and structural and digestibility of water caltrop starch. *Starch*, 72(9-10). <https://doi.org/10.1002/star.201900275>
- Won, C., Jin, Y. I., Chang, D., Kim, M., Lee, Y., Ganesan, P., Lee, Y., & Chang, Y. H. (2017). Rheological, pasting, thermal and retrogradation properties of octenyl succinic anhydride modified potato starch. *Food Science and Technology*, 37(2), 321-327. <https://doi.org/10.1590/1678-457x.23616>

- Xu, L., Bai, Z., Feng, J., He, L., Ren, J., Chai, S., & Chen, X. (2023). Effects of the degree of substitution of octenyl succinic anhydride on the physicochemical characteristics of adlay starch. *International Journal of Biological Macromolecules*, 241, 124535. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124535>
- Yang, Q., Lu, X., Chen, Y., Luo, Z., & Xiao, Z. (2019). Fine structure, crystalline and physicochemical properties of waxy corn starch treated by ultrasound irradiation. *Ultrasonics Sonochemistry*, 51, 350-358. <https://doi.org/10.1016/j.ulsonch.2018.09.001>
- Yao, T., Wen, Y., Xu, Z., Ma, M., Li, P., Brennan, C., Sui, Z., & Corke, H. (2020). Octenylsuccinylation differentially modifies the physicochemical properties and digestibility of small granule starches. *International Journal of Biological Macromolecules*, 144, 705-714. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.129>
- Yao, T., Xu, Z., Ma, M., Wen, Y., Liu, X., & Sui, Z. (2024). Impact of granule-associated lipid removal on the property changes of octenylsuccinylated small-granule starches. *Carbohydrate Polymers*, 323, 121448. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.121448>
- Zhang, B., Mei, J., Chen, B., & Chen, H. (2017). Digestibility, physicochemical and structural properties of octenyl succinic anhydride-modified cassava starches with different degree of substitution. *Food Chemistry*, 229, 136-141. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.061>
- Zhang, J., Ran, C., Jiang, X., & Duo, J. (2021). Impact of octenyl succinic anhydride (OSA) esterification on microstructure and physicochemical properties of sorghum starch. *LWT-Food Science and Technology*, 152, 112320. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112320>
- Zhou, F., Dong, M., Huang, J., Lin, G., Liang, J., Deng, S., Gu, C., & Yang, Q. (2023). Preparation and physico-chemical characterization of OSA-modified starches from different botanical origins and study on the properties of pickering emulsions stabilized by these starches. *Polymers*, 15(3), 706. <https://doi.org/10.3390/polym15030706>
- Zhu, T., Jackson, D. S., Wehling, R. L., & Geera, B. (2008). Comparison of amylose determination methods and the development of a dual wavelength iodine binding technique. *Cereal Chemistry*, 85(1), 51-58. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-85-1-0051>