



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS
BIOLÓGICAS

SECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

“USO DE LA EXTRUSIÓN PARA EL MEJORAMIENTO DE LAS
PROPIEDADES NUTRACÉUTICAS DE MEZCLAS PLÁTANO-
LENTEJA”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS EN ALIMENTOS

PRESENTA:

M. EN C. ROCIO GUADALUPE HERNÁNDEZ NAVA

DIRECTORES:

DRA. ROSALVA MORA ESCOBEDO

DR. LUÍS ARTURO BELLO PÉREZ



MÉXICO D. F., JULIO DEL 2011.



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

SIP-14

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de México, D.F., siendo las 17:00 horas del dia 28 del mes de junio del 2011 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de Alimentos para examinar la tesis de titulada:

Uso de la extrusión para el mejoramiento de las propiedades nutracéuticas de mezclas plátano-lenteja.

Presentada por el alumno:

<u>HERNÁNDEZ</u> Apellido paterno	<u>NAVA</u> Apellido materno	<u>ROCIO GUADALUPE</u> Nombre(s)
--------------------------------------	---------------------------------	-------------------------------------

Con registro: A 0 7 0 0 5 6

aspirante de:

DOCTORADO

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **SU APROBACIÓN DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA

Directores de tesis

Dra. Rosalva Mora Escobedo

Dr. Luis Alvaro Bello Pérez

Dra. Gloria Dávila Ortiz

Dra. Lidia Dorantes Alvarez

Dr. Eduardo San Martín Martínez

Dr. Humberto Hernández Sánchez

EL PRESIDENTE DEL COLEGIO



Dr. Manuel Jesús Piñón López
S.E.P.
Escuela Nacional de
Ciencias Biológicas
Sección de Estudios
de Posgrado
e Investigación



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

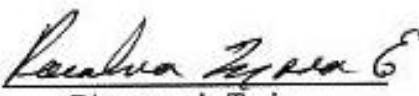
En la Ciudad de México, D.F., el día 29 del mes de Junio del año 2011, la que suscribe **Hernández Nava Rocio Guadalupe** alumno (a) del Programa de Doctorado en Ciencias en Alimentos con número de registro B070056, adscrito a la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional, manifiesta que es autora intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de la **Dra Mora Escobedo Rosalva y Dr. Bello Pérez Luis Arturo** ceden los derechos del trabajo intitulado: “**Uso de la extrusión para el mejoramiento de las propiedades nutracéuticas de mezclas plátano-lenteja**”, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a las siguientes direcciones: **rfernandezn@ipn.mx, rosalmora@hotmail.com** y **lbellop@ipn.mx**; si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

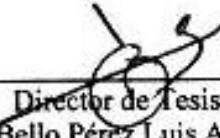


Nombre y firma alumna
M.C. Hernández Nava Rocio Guadalupe

Yo. Bo



Directora de Tesis
Dra. Mora Escobedo Rosalva



Director de Tesis
Dr. Bello Pérez Luis Arturo

Este trabajo se realizó en el Departamento de Graduados e Investigación en Alimentos de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas y en el Laboratorio de Control de Calidad del Departamento de Desarrollo Tecnológico del Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, bajo la dirección de la Dra. Rosalva Mora Escobedo y el Dr. Luis Arturo Bello Pérez,

Revista Mexicana de Ingeniería Química

Publicación de la Academia Mexicana de Investigación y Docencia en Ingeniería Química, A. C. Depto. de Ingeniería de Procesos e Hidráulica, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Av. San Rafael Atlixco No. 186, Col. Vicentina, 09340 México, D. F. Tel. 5844648 al 51. FAX 58 044900. E-mail: amidiq@xanum.uam.mx

Editores en Jefe:

Dr. J. Alberto Ochoa Tapia
Dr. E. Jaime Vernon Carter
Dr. Tomás Viveros García

Responder a:

Dr. Tomás Viveros García
E-mail: tvig@xanum.uam.mx;
amidiq@xanum.uam.mx

México, D. F., a _____ de _____ de 20____

e-mail:

Manuscrito No. RMIQ-

Estimado(a) Dr.

Le informo que la *Revista Mexicana de Ingeniería Química* ha aceptado su artículo

Título del Trabajo: _____

Autores: _____

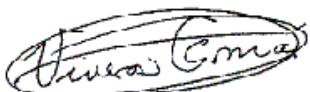
para su publicación.

En breve le haremos llegar las galeras correspondientes para su revisión.

Agradezco su participación y colaboración y hacemos una extensa invitación para que sometan futuros manuscritos a la RMIQ.

Sin más por el momento me despido de usted.

Atentamente:



Dr. Tomás Viveros García
Editor de RMIQ

2 **EFFECT OF EXTRUSION COOKING ON THE FUNCTIONAL PROPERTIES AND IN
3 VITRO STARCH DIGESTIBILITY OF LENTIL/BANANA BLENDS: RESPONSE
4 SURFACE ANALYSIS.**

6 **EFFECTO DE LA EXTRUSIÓN EN LAS PROPIEDADES FUNCIONALES Y
7 DIGESTIBILIDAD IN VITRO DEL ALMIDÓN DE MEZCLAS LENTEJA/PLÁTANO:
8 ANÁLISIS DE SUPERFICIE DE RESPUESTA**

10 *R. G. Hernández-Nava¹, L. A. Bello-Pérez², E. San
11 Martín-Martínez³, H. Hernández-Sánchez¹, and R. Mora-Escobedo^{1*}*

12 *Corresponding author:rosalmora@hotmail.com. Tel. 55-57296000 Ext. 62462

13 ¹Departamento de Graduados e Investigación en Alimentos, E.N.C.B., I.P.N. Prol. Carpio y
14 Plan de Ayala, Col. Sto. Tomás, México, D.F. C.P. 11340.

15 ²Centro de Desarrollo de Productos Bióticos del IPN, Apartado postal 24. C.P. 62731,
16 Yautepec, Morelos, México.

17 ³CICATA, I.P.N. Legaria. Av. Legaria No. 694. Col. Irrigación, México, D.F. C.P. 11500.
18 Fecha de envío: 1 Julio 2011

19 **Resumen**

20 Se procesaron harinas de lenteja y plátano en un extrusor de tornillo simple, modificando
21 la proporción de harina (20.5-79.5%), la temperatura de barril (145-175 °C) y la humedad
22 de alimentación (20-24%). Las propiedades funcionales evaluadas en los extrudidos fueron
23 índice de absorción de agua (IAA) y de solubilidad (ISA), densidad aparente (DA), perfil
24 de viscosidad, cambios microestructurales y contenido de almidón resistente. La proporción
25 de las harinas de lenteja/plátano fueron las variables independientes que más afectaron a las
26 variables dependientes IAA, ISA, DA y viscosidad. Los resultados de este estudio muestran
27 que la mezcla de lenteja/plátano, después de la cocción por extrusión provee características
28 funcionales deseables, con un alto contenido de almidón resistente.

30 *Palabras clave:* Extrusión, Harina de lenteja, Harina de plátano, Propiedades
31 funcionales

32 **Abstract**

33 Banana and lentil flour blends were processed in a single screw extruder modifying the
34 flour proportion (20.5-79.5%), the barrel temperature (145-175 °C) and the feeding
35 moisture content (20-24%). Functional characteristics evaluated in the extrudates were
36 water absorption index (WAI), water solubility index (WSI), bulk density (BD), paste
37 viscosity properties, microstructure and resistant starch content. The concentration of
38 lentil/banana blends and temperature were the most important variables affecting dependent
39 variables WAI, WSI, BD and viscosity properties. The results of this study indicated that
40 lentil/banana blends, after extrusion cooking induced desirable functional characteristics
41 with a high content of resistant starch.

42 *Keywords:* Extrusion, Lentil flour, Banana flour, Functional properties

44 **1. Introduction**

45

46 Extrusion cooking technology is a continuous, high-temperature, short-time process with
47 high capability of production at low cost. Extrusion converts raw materials into shelf-stable
48 finished food products with enhanced textural attributes and flavor. The extrusion has been
49 used to develop various types of snack foods, mainly from corn meal, rice, wheat or potato
50 flour, in many shapes and variety of textures. Extrusion cooking modifies the digestible
51 characteristic (protein and starch) and functional properties, such as paste viscosity, water
52 absorption and water solubility indexes, expansion index and bulk density (Ali *et al.*, 1996;
53 Hernandez-Diaz, *et al.*, 2007).

54

55

56 Published studies have focused on the use of this technology using cereals, vegetables,
57 fruits and legumes to improve their nutritional profile (Liu *et al.*, 2000; Berrios, 2006).
58 Lentil flour has potential for traditional and newer product developments with health
59 benefits since it contains about 25% protein, 56% carbohydrate and 1% fat. Lentils are
60 considered as one of the best and low-cost sources of vegetable proteins and are also a good
61 source of B-complex vitamins, such as folate, thiamine, niacin and riboflavin (Fikry *et al.*,
62 1980; Adsule *et al.*, 1989). They have appropriate balance of minerals, a high amount of
63 dietary fiber and complex carbohydrates involved in low glycemic index (Shams *et al.*,
64 2008). Lentils have been associated with cholesterol and lipid lowering effects in humans,
65 along with a reduction of the incidence of colon cancer and type-2 diabetes (Leterme, 2002;
66 Shams *et al.*, 2008). On the other hand, the consumption of banana is mainly in its ripe
67 state. In México, the postharvest handling is still inappropriate and, as a consequence, large
68 quantities of this fruit are lost during commercialization. In this sense, unripe banana has
69 been investigated and the studies indicated that these fruits had 17.5% of resistant starch
70 (RS) and 14.5% of dietary fiber so the consumption of unripe bananas could improve the
71 colon health (Faisant *et al.*, 1995; Juarez-Garcia *et al.*, 2006). For this reason the flour
72 obtained from this fruit could be considered a functional ingredient for the food industry.
73

74

75 The objective of this study was to investigate the effect of extrusion on blends of lentil and
76 banana flours over their functional properties and the digestibility of starch.

77

78 **2. Methodologies**

79

80 *2.1 Raw materials*

81

82 Commercial hard green (unripe) pre-climacteric bananas (*Musa paradisiaca* L.) were
83 purchased from a local market in Cuautla, Morelos, Mexico. Fruits were peeled and cut into
84 5 mm slices and immediately rinsed in citric acid solution (0.3% w/v). The slices were
85 dried at 50°C in a convection oven. The lentils (*Lens culinaris*) were purchased from
86 “Local Productores Unidos de Huaniqueo”, (Huaniqueo, Michoacán, México). Lentils and
87 dried banana slices were ground using a commercial grinder (Mapisa Internacional S.A. de
88 C.V., D.F., México) to pass through a US 40 sieve and stored at 25°C in sealed plastic
89 containers until further analyses.

90

91 2.2 *Chemical analysis*

92
93 Moisture, ash, protein and fat analyses of raw materials were carried out according to the
94 procedures of AOAC (1990). All the determinations were performed in triplicate.

95
96 2.3 *Samples conditioning*

97
98 Banana and lentil flours were mixed (Maren type 10, Effort, Copenhagen, Denmark) and
99 spray-atomized with water, to reach the various moisture contents indicated in the central
100 composite experimental design (Table 2). The samples were stored in plastic bags at 4°C
101 for subsequent processing.

102
103 2.4 *Extrusion*

104
105 Materials were processed in a single-screw extruder (CICATA – IPN, México, D.F.), 60
106 mm diameter and 950 mm length screw. The barrels contained three controlled heating and
107 cooling zones. The diameter of the hole in the die was 12.5 mm. Three thermocouples were
108 used to monitor the barrel temperatures and one extra thermocouple was inserted in the die
109 plate. The materials were feed to the extruder at 25 Hz, controlled with a Baldor Electric
110 Co. Cat. GPP 7454 MDF (FT Smith, AR, USA). Extrusion was carried out at different
111 temperatures, moisture contents and flour blend proportions in the mixture, according to the
112 experimental design shown in Table 2. The final product was stored in polyethylene bags
113 until further analysis.

114
115 2.5. *Experimental design and statistical analysis*

116
117 To analyze the influence of independent variables on functional characteristics of lentil and
118 banana blends, response surface methodology (RSM) was used. A central-composite
119 rotatable design (Montgomery, 2004; Velázquez-Trujillo *et al.*, 2010) was selected with three
120 variables: ratio of lentil to banana flour (20.5-79.5%), feed moisture content (20-24%) and
121 temperature (145–175°C). Six repetitions were made at the central point conditions.
122 Treatments were performed randomly and results were analyzed using the statistical
123 program Design expert ® version 8.0.4. Minneapolis, MN, USA. The significance of the
124 models was tested by variance analysis (test F) and the determination coefficient R², and
125 values and significance of the independent variables were also calculated, considering,
126 α=0.05

127
128 2.6. *Characterization of the extruded samples*

129
130 The extruded samples were milled to pass through a 60 mesh sieve and stored at room
131 temperature in plastic bags. In all determinations, the average of three determinations was
132 reported.

133
134 2.6.1. *Water absorption index (WAI) and water solubility index (WSI)*

135
136 The WAI and WSI of the extruded materials were determined using the procedure reported
137 by Anderson (1982).

138 2.6.2. Bulk density (BD)

139

140 The BD was determined by the method proposed by Hsieh *et al.* (1990); in this study millet
141 seeds were used.

142

143 2.6.3. Viscosity profile: Maximum viscosity (MV) and Final Viscosity (FV)

144

145 The viscosity profile was determined according to the method proposed by Guerra-
146 DellaValle *et al.* (2009). Tests were carried out in a Rapid Visco Analyser (RVA-4D;
147 Newport Scientific Pty, Warriewood, Australia). The sample preparation was done, using a
148 total test sample of 28 g, taking into account the initial moisture of each extruded sample.
149 The samples were placed in a canister and the suspension was heated from 50 to 90°C in 5
150 min and held at 90°C for another 5 min, then cooled down to 50°C for an extra 6 min so that
151 the total time of analysis was 16 min at 160 rpm. Relative viscosity was reported in
152 centipoises (cPs) and the following parameters were obtained from the curve: MV
153 (maximum viscosity obtained during the heating) and FV (final viscosity at the end of the
154 test).

155

156 2.6.4. Total and resistant starch

157

158 Total starch (TS) was determined by the method of Goñi *et al.* (1997); 50 mg of sample
159 were dispersed in 2 M KOH (30 min); then samples were incubated with amyloglucosidase
160 (Boehringer, No. 102857, 60°C, 45 min, pH 4.75), and glucose was determined using the
161 glucose oxidase assay GOD-POD. TS was calculated as released glucose (mg) x 0.9.

162

163 Resistant starch (RS) was evaluated by the method of Goñi *et al.* (1996). Protein and
164 digestible starch were removed with pepsin (P-7012, 2500– 3500 units/mg protein, Sigma
165 Chemical Co., St. Louis, MO) by incubation at 40 °C, pH 1.5 for 1 h and with α -amylase
166 (A-3176, 10–30 units/mg solid, Sigma Chemical Co.) incubating at 37 °C, pH 6.9 for 16 h.
167 The residue was treated with 2 M KOH and then incubated with amyloglucosidase (A-
168 7255, 5000 units/g solid, Sigma Chemical Co.) at 60°C and pH 4.75, for 45 min. Glucose
169 was determined using glucose oxidase/peroxidase assay (SERA-PAK ® Plus, Bayer de
170 México, S.A. de C.V., Edo. De México). RS was calculated as mg glucose x 0.9.

171

172 2.6.5. X-ray diffraction

173

174 Samples, before the analysis were stored in a sealed container at a relative humidity of 82%
175 for obtaining a constant moisture content, and then analyzed between $2\theta=10^\circ$ and $2\theta=50^\circ$
176 with a step size $2\theta=0.02^\circ$ in an X-ray diffractometer (Philips PW 1710, The Netherlands)
177 using Cu K α radiation ($\lambda= 1.543$), 50 kV and 30 mA. The diffractometer was equipped with
178 a 18 divergence slit and a 0.1 mm receiving slit (González- Soto *et al.*, 2007). Starch
179 crystallinity determination with X-ray diffraction is generally carried out following different
180 methods (Rindlav-Westling *et al.*, 2002). These methods calculate crystallinity by
181 subtracting the amorphous contribution from the measured spectra. A sample containing
182 amorphous maize starch was prepared and its diffraction spectrum used as the amorphous
183 contribution in the measured spectra. Crystallinity was calculated by subtracting the
184 amorphous contribution in each spectrum according to Equation (1) (Rodríguez, 1995):

185 $\%C = At/Ap-N$ $N = 149.6 \text{ cps} * \text{deg}$ (1)

186

187 Where:

188 $\%C$ = Percent crystallinity

189 Ap = Area of crystalline peaks (from the difference between the area under the curve and of
190 the amorphous halo)

191 At = Total area under the curve

192 N = Instrument noise

193

194 **3. Results and discussion**

195 *3.1 Chemical composition of raw materials*

196 The raw materials had very similar mineral composition, whereas moisture, fat and protein
197 content were higher in lentil flour (Table 1). Lentil protein, lipids and ash content were
198 similar to values reported by Cai *et al.* (2001). As expected, the highest resistant starch
199 content was found in banana flour.

200

201 *3.2 Water absorption index*

202

203 The Water absorption index (WAI) measures the amount of water absorbed by starch and
204 can be used as an index of gelatinization (Anderson *et al.*, 1969). The gelatinization is the
205 conversion of raw starch to a cooked and digestible material by the application of water and
206 heat is one of the important effects that extrusion has on the starch component of foods.

207

208 Table 3, shows the regression coefficients for a second-order model for WAI. The
209 coefficients that had a significant effect ($P < 0.05$) on WAI, were the linear term M (flour
210 moisture content) and T (die temperature), the quadratic effect of T and the interaction of M
211 and T.

212

213 The response surface graph shows that the maximum WAI value was found at the highest
214 moisture content and lentil flour level in the blend. Similar effect of moisture content on
215 WAI has been reported for rice with pea grit (Singh *et al.*, 2007). At high moisture content,
216 the viscosity of the starch would be low, allowing for extensive internal mixing and
217 uniform heating which, in turn, would account for enhanced starch gelatinization (Lawton
218 *et al.*, 1972), which may lead to increased water absorption. Lower WAI values were
219 observed, at lower moisture content and high lentil flour concentration in the blend (Fig. 1).
220 The protein content increased in the extrudates and the WAI depends on availability of
221 hydrophilic groups which bind water molecules and on the gel forming capacity of
222 macromolecules. Although legume proteins have hydrophilic groups, the protein
223 denaturation during extrusion cooking leads to loss of hydration capacity of proteins. The
224 lower hydration capacity is favored by the formation of inter- and intra-molecular protein
225 bonds with amylose and amylopectin (Fernandez-Gutierrez *et al.*, 2004).

226

227 *3.3. Water solubility index*

228

229 The Water solubility index (WSI) is related to the quantity of water soluble molecules, and
230 is associated to dextrinization. In other words, WSI can be used as an indicator of the
231 degradation of molecular compounds, and measures the starch degradation resulted from

232 the extrusion (Colonna, *et al.*, 1989; Ding *et al.*, 2005). Recently, WSI was used as an
233 indicator for evaluating the degree of cooking in bean extrudates (Drago *et al.*, 2007).
234 The model equation predicting this response is given in the Table 3, the determination
235 coefficient for this model was $R^2=0.8472$ and $P=0.0044$. The terms that showed significant
236 effect on WSI ($P<0.05$) were: T, C, T^2 and MT. This surface response model is shown in
237 Fig. 2. The lower WSI values were found at moisture 22%, temperature 150°C and 50% of
238 banana flour and 50% lentil flour, whereas the maximum values of WSI were obtained in
239 the extrudates processed at moisture 20%, 180°C and high concentrations of banana flour
240 in the blends.
241

242 The blends with high levels of lentil concentration (consequently higher protein content)
243 processed at high or low moisture content and low temperature, presented low WSI values
244 (Fig. 2), because the protein present in the blends lost solubility by denaturation, when it is
245 subjected to high extrusion temperature. Also due to loss of protein solubility by
246 denaturation, structural changes may occur which allow hydrophilic groups such as -OH, -
247 NH₂, -COOH, and -SH to form cross-links with starch (Ramírez-Ortiz *et al.*, 2008).
248

249 3.4. Bulk density

250

251 Bulk density is a very important parameter in the production of expanded and formed food
252 products, the bulk density which considers expansion in all directions (Wang and
253 Ballington, 2007). The regression equation for BD is presented in the Table 3; the extrusion
254 variables that had a significant effect on the BD, were M, T and C, M^2 , T and MC. The BD
255 of the extrudates was between 0.17 and 0.54 g/cm³, and the effect of extrusion variables on
256 BD are reported in Fig. 3. The response surface graph obtained corresponding to this model
257 showed that the lowest BD values were obtained when the blend with high level of banana
258 flour was extruded at higher temperatures (Fig. 3). The BD values decreased when the
259 extrusion temperature increased due to higher starch gelatinization. According to Mercier
260 and Feillet (1975); Case *et al.* (1992) as gelatinization increases, the volume of extruded
261 products increases and bulk density decreases.
262

263 The highest value of BD was obtained at high levels of lentil flour in the blend processed at
264 high moisture content. The increase of protein content on the extrudates can also influence
265 density since friction and shear during extrusion cause extensive interlacing between
266 proteins and lead to their texturization because of high protein content promote denser and
267 rigid extrudates products (Ruiz-Ruiz *et al.*, 2008).
268

269 3.5. Maximum viscosity

270

271 RVA studies are used extensively to characterize the pasting properties of starch in grains
272 and processed foods (Bryant *et al.*, 2001; Kadan, *et al.*, 2003). In the extruded products, the
273 viscosity determined by the RVA reflects the changes in pasting properties that result from
274 starch structural changes during cooking and therefore gives an indirect evaluation of the
275 extent of starch conversion. The model prediction for MV is presented in Table 3, the
276 determination coefficient for this model was $R^2= 0.8348$ and $P=0.0007$, the terms T, C and
277 the interaction of the terms MT and TC had a significant effect ($P<0.05$) on MV.
278

The highest values of viscosity in the extrudates were associated with a high proportion of ungelatinized starch, whereas the lowest values of viscosity might reflect greater degradation and gelatinization of starch that is attributable to depolymerization and molecular entanglement resulting from the processing conditions (Hagenimana, *et al.*, 2006). The response surface graph obtained for MV is shown in Fig.4. The highest values of viscosity on the extrudates were found in the blends with high level of banana flour, processes at low moisture content and low temperature. Under these conditions starch is not complete gelatinized, since gelatinization process is carry out in excess of water, or fusion of starch granules is produce with low water content but high temperature. The lowest values for MV were found with low moisture content and high temperature; at high temperature the extruded mass became plastic and less viscous, allowing the molecules to become more susceptible to compression during extrusion. Thus, greater thermal and mechanical action was produced, resulting in degradation of the starch granules and, consequently, lower viscosity value. Carvalho, *et al.*, (2002), suggested that high barrel temperatures and low feed moisture resulted in increased mechanical effort during the extrusion process of third-generation snacks, resulting in great starch degradation and low viscosity values. The lower values for the extruded materials compared with the untreated samples are probably a consequence of the denaturation of the protein and the starch-protein interactions that produce structures with lower capacity for interaction with water and consequently low viscosity. The MV results for the extruded materials come from the modification of the conformation of the proteins; many of the covalent bonds that stabilize the secondary structure are destroyed and new bonds can be form between the subunits (Lampart-Szczapa, *et al.*, 2006) enabling the formation of starch-lipid and starch-protein complex, as well as retrograded amylose (Guha *et al.*, 1998).

3.6. Final viscosity

The final viscosity (FV) is a measure of starch reassociation, which in extruded products, depends on modifications that occur in the structure of granules and molecules, and could give an indirect indication of how much RS can be formed via retrogradation of starch. The retrogradation has been reported to be of considerable practical importance since it affects textural changes in starchy foods. Amylose leaching, friction between swollen granules, granule swelling, and competition between leached amylose and remaining ungelatinized granules for free water have been reported to affect hot paste viscosity (Liu, *et al.*, 1997).

The quadratic model fitted to the experimental results for FV that it showed as significant ($P<0.05$) effect were the linear terms T and C, the quadratic terms M and T and the interactions (MT and TC). The Fig. 5 illustrates the response surface graph obtained for the FV. High degree of reassociation was found on the extruded products with the highest proportion of banana flour in the blend and extruded at low temperature, this could be associated with the increase of the starch content in the mixture, and the extent of increase in viscosity is due to the reassociation tendency of the starch. In this work the FV decreased when the blend with high concentration of lentil flour and low moisture content was extruded at high temperature; this is probably due to the fact that during cooling the starch and the protein produce a weaker and less stable gel.

3.7. Total and resistant starch

326 Total starch value in the extruded products showed an increase from 34% to 65%, which
327 was related to the level of the raw flours used in the blend. The regression equation for the
328 relationship between resistant starch (RS) and the independent variables of lentil-banana
329 flour concentration, moisture content and temperature obtained are presented in Table 3.
330 The coefficient of determination (R^2) was 0.8399 and it was significant ($P<0.05$).
331 The linear effects of moisture and lentil flour concentration as well the quadratic effect of
332 temperature and the interaction between moisture content and temperature was found to
333 significantly influence the resistant starch content in the products the Fig. 6 illustrates the
334 response surface graph obtained for the RS their ranged between 1.3% to 2.4%, and the
335 higher RS content was found in the extruded process at 22-24% of moisture, 160-175°C
336 and high proportion of banana flour in the blend. The reduction of digestibility by
337 increasing temperature was attributed to reassociation of gelatinized starch or formation of
338 amylose-lipid and/or starch-protein complex, which reduce the susceptibility of starch to
339 enzyme hydrolysis (Guha and Bhattacharya, 1997). Limited amount of water would
340 suppress swelling and amylose leaching, thus making amylose unavailable for
341 recrystallization, since the amylose is important to starch reassociation. Some authors
342 reported that amylose content of 37% in banana starch (Yoshimoto *et al.*, 2000; Tester, *et*
343 *al.*, 2004) and the extrudates with high proportion of banana flour in the extruded blend
344 shows the highest RS concentration.

345

346 3.8. X-ray diffraction

347

348 X-ray diffraction was used to study the changes in the crystalline structure of the extruded
349 products at the molecular level. The banana flour studied showed a relative crystallinity of
350 2.45% and C-type X-ray pattern with main reflections at 2θ values of 17° , 18° and 23° as
351 González-Soto *et al.* (2007) reported. The diffraction spectra of the lentil flour, showed
352 peaks at 2θ values of 15° , 17.2° and 23.2° ; this pattern closely matches the reported values
353 for B-type legumes starches and the relative crystallinity found in this flour was 1.30%
354 (Hoover and Ratnayake, 2002; Kaur *et al.*, 2004).

355 During the extrusion process the organized crystalline structure of the raw materials are
356 partially or totally destroyed, depending on the extrusion conditions principally due to the
357 barrel temperature and feed moisture. These changes in the structure are also related with
358 the starch source and other components present in the flour, such as proteins and fibers
359 (McPherson, *et al.*, 2000). Despite the fact that the original crystallinity reflections were
360 almost or completely erased, some degree of crystallinity in the extruded products was
361 detected, partially organized in B-type crystalline structures. These are very stable and
362 known to be very resistant to α -amylase hydrolysis. This results show the influence of
363 banana starch, due to the main component of unripe banana is starch as Guerra-Della *et al.*
364 (2009) reported. These changes were reflected in functional properties as BD and Viscosity
365 and RS content.

366

367 4. Conclusions

368

369 Lentil and banana flours had several desirable attributes as functional ingredients to
370 produce healthy new food products. The extrusion process induced additional phenomena
371 such as changes in WSI, BD, viscosity values and resistant starch content. The

373 concentration of lentil/banana blends and temperature were the most important variables
374 affecting dependent variables (WSI, BD, MV and FV). All this dependent variables could
375 be controlled by appropriated processing conditions. At 155 °C and high concentration of
376 banana flour the products with highest resistant starch content were obtained.
377

378 **Nomenclature**

379 M	Moisture content of lentil/banana flours
380 T	Die temperature °C
381 C	Lentil flour content
382 RSM	Response surface methodology
383 R^2	Determination coefficient
384 WAI	Water absorption index, g/g
385 WSI	Water solubility index, %
386 BD	Bulk density, g/cm ³
387 MV	Maximum viscosity, cPs
388 FV	Final viscosity, cPs
389 TS	Total starch, %
390 RS	Resistant starch, %
391 % C	Percent crystallinity
392 Ap	Area crystalline peaks
393 At	Total area under the curve
394 N	Instrument noise
395	

396 **Acknowledgements**

397 The research was support by Instituto Politecnico Nacional, project SIP: 20100873. BPA,
398 HHS, SME and MER received grant support EDI, COFAA and SNI. RHN received
399 scholarship from CONACyT, México.
400

401

402

403

404

405

406

407

408

409 **References**

- 410 Adsule, R. N., Kadam, S. S., and Leung, H. K. (1989). Lentil. In Salunkhe, D. K. &
411 Kadam, S.S. (Eds.), *Handbook of world food legumes: Nutritional chemistry, processing*
412 *technology, and utilization*, Vol. 11 (p. 131). Boca Raton, FL: CRC Press.
413
- 414 Ali, Y., Hanna, M. A., and Chinnaswamy, R. (1996). Expansion characteristics of extruded
415 corn grits. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie* 29, 702–707.
416
- 417 Anderson, R. A., Conway, H. F., Pfeifer, V. F., and Griffin, E. L. (1969). Gelatinization of
418 corn grits by roll and extrusion cooking. *Cereal Science Today* 14, 4–12.
419
- 420 Anderson, R.A., (1982). Water absorption and solubility and amylograph characteristics of
421 roll-cooked small grain products. *Cereal Chemistry* 59, 265–269.
422
- 423 AOAC (1990). Official methods of analysis. Washington, DC: Association of Official
424 Analytical Chemists.
425
- 426 Berrios, J. de J. (2006). Extrusion cooking of legumes: Dry bean flours. In Heldman, D. R.
427 (Ed.), *Encyclopedia of agricultural, food, and biological engineering* (pp. 1–8). London,
428 England: Taylor & Francis Group
429
- 430 Bryant, R.J., Kadan, R.S., Chamapagne, E.T., Vinyard, B.T. and Boykin, D. (2001).
431 Functional and digestive characteristics of extruded rice flour. *Cereal Chemistry* 78, 131–
432 7.
433
- 434 Cai, R., Klamczynska B., and Baik, B.K. (2001). Preparation of bean curds from protein
435 fractions of six legumes. *Journal Agricultural Food Chemistry*. 49, 3068-3073.
436
- 437 Carvalho, R. V., Ascheri, J. L. R., and Cal-Vidal, J. (2002). Efeito dos parâmetros de
438 extrusão nas propriedades físicas de pellets (3G) de misturas de farinhas de trigo, arroz e
439 banana. *Ciência e Agrotecnologia* 26, 1006-1018.
440
- 441 Case, S. E., Hamann, D. D., and Schwartz, S. J. (1992). Effect of starch gelatinization on
442 physical properties of extruded wheat- and corn based products. *Cereal Chemistry* 69,
443 401-404.
444
- 445 Colonna, P., Tayeb, J., and Mercier, C. (1989). Extrusion cooking of starch and starchy
446 products. In C. Mercier, P. Linko, & J. M. Harper (Eds.), *Extrusion cooking* (pp. 247–
447 320). American Association of Cereal Chemists, Inc.
448
- 449 Ding, Q.B., Ainsworth, P., Tucker, G., and Marson, H. (2005). The effect of extrusion
450 conditions on the physicochemical properties and sensory characteristics of rice-based
451 expanded snacks. *Journal of Food Engineering* 66, 283–289.
452

- 453 Drago, S., Velasco-González, O., Torres, R., González, R., and Valencia, M. (2007). Effect
454 of the extrusion on functional properties and mineral dialyzability from *Phaseolus*
455 *vulgaris* bean flour. *Plant Foods for Human Nutrition* 62, 43–48.
- 456
- 457 Faisant, N., Gallant, D. J., Bouchet, B., and Champ, M. (1995). Banana starch breakdown
458 in the human small intestine studied by electron microscopy. *European Journal of*
459 *Clinical Nutrition* 49, 98–104.
- 460
- 461 Fikry I. El-nahry., Foad E. Mourad., Sohair M. Abdel Khalik., and Nargis S. Bassily.
462 (1980). Chemical composition and protein quality of lentils (*Lens*) consumed in Egypt.
463 *Plant Foods for Human Nutrition* 30, 87–95.
- 464
- 465 Goñi, I., García, D. and Saura-Calixto, F. (1997). A starch hydrolysis procedure to estimate
466 glycemic index. *Nutrition Research* 17, 427–437.
- 467
- 468 Goñi, I., García-Díaz, L., Mañas, E., and Saura-Calixto, F. (1996). Analysis of resistant
469 starch: A method for foods and food products. *Food Chemistry* 56, 445–449.
- 470
- 471 Guerra-DellaValle, D., Sánchez-Rivera, M. M., Zamudio-Flores, P. B., Méndez-Montealvo
472 G. and Bello-Pérez, L. A. (2009). Effect of chemical modification type on
473 physicochemical and rheological characteristics of banana starch. *Revista Mexicana de*
474 *Ingeniería Química* 8, 197-203.
- 475
- 476 González- Soto,R.A., Mora-Escobedo, R, Hernández-Sánchez, H., Sanchez-Rivera, M. and
477 Bello-Pérez, L.A. (2007). The influence of time and storage temperatura on resistant
478 starch. *Food Research International* 40, 304-310.
- 479
- 480 Guha M., Ali,S.Z. and Bhattacharya, S. (1997). Twin-screw extrusion of rice flour without
481 a die: Effect of barrel temperature and screw speed on extrusion and extrudate
482 characteristics. *Journal of Food Engineering* 32, 251–267.
- 483
- 484 Guha, M., Zakiuddin, S. and Bhattacharya, S. (1998). Effect of barrel temperature and
485 screw speed on rapid viscoanalyzer pasting behaviour or rice extrudates. *International*
486 *Journal of Food Science and Technology* 33, 259–266.
- 487
- 488 Hagenimana, A, Ding, X., and Fang, T. (2006). Evaluation of rice flour modified by
489 extrusion cooking. *Journal of Cereal Science* 43, 38–46.
- 490
- 491 Hernández-Díaz, J. R., Quintero-Ramos, A., Barnard, J., and Balandran-Quintana, R. R.
492 (2007). Functional properties of extrudates prepared with blends of wheat flour/pinto
493 bean meal with added wheat bran. *Food Science and Technology International* 13, 301–
494 308.
- 495
- 496 Hsieh, F., Peng, I. C., and Huff, H. E. (1990). Effects of salt, sugar and screw speed on
497 processing and product variables of corn meal extruded with a twin-screw extruder.
498 *Journal of Food Science* 55, 224-227.
- 499

- 500 Hoover, R. and Ratnayake, W.S. (2002). Starch characteristics of black bean, chick pea,
501 lentil navy bean and pinto bean cultivars grown in Canada. *Food Chemistry* 78, 489-498.
502
- 503 Juárez-García, E., Agama-Acevedo, E., Sáyago-Ayerdi, S. G., Rodríguez-Ambriz, S. L.,
504 and Bello-Pérez, L. A. (2006). Composition, digestibility and application in
505 breadmaking of banana flour. *Plant Food for Human Nutrition* 61, 131–137.
506
- 507 Kadan, R. S., Bryant, R.J. and Pepperman, A.B. (2003). Functional Properties of Extruded
508 Rice Flours. *Journal of Food Science* 68, 1669-1672.
- 509 Kaur, M., N. Singh, K. Singh-Sandhu, and H. Singh-Guraya. (2004). Physicochemical,
510 morphological, thermal and rheological properties of starches separated from kernels of
511 some Indian mango cultivars (*Mangifera indica* L.). *Food Chemistry* 85, 131-140.
512
- 513 Lampart-Szczapa, E., Konieczny, P., Nogala-Kałucka, M., Walczak, s., Kossowska, I and
514 Malinowska, M. (2006). Some functional properties of lupin proteins modified by lactic
515 fermentation and extrusion. *Food Chemistry* 96, 290–296.
516
- 517 Lawton, B. T., Henderson, G. A., and Derlatka, E. J. (1972). The effects of extruder
518 variables on the gelatinization of corn starch. *Canadian Journal of Chemical
519 Engineering* 50, 168-172.
520
- 521 Leterme P. (2002). Recommendations by health organizations for pulse consumption.
522 *British Journal of Nutrition* 88, S239-42.
523
- 524 Liu, H., Ramsden, L., and Corke, H. (1997). Physical properties and enzymatic digestibility
525 of acetylated ae, wx, and normal corn starch. *Carbohydrate Polymers* 34, 283–289.
526
- 527 Liu, Y., Hsieh, E., Heymann, H., and Huff, H. E. (2000). Effect of process conditions on
528 the physical and sensory properties of extruded oat-corn puff. *Journal of Food Science*
529 65, 1253–1259.
530
- 531 McPherson, A.E., Bailey, T.B., and Jane, J., (2000). Extrusion of cross-linked
532 hydroxypropylated corn starches. I. Pasting properties. *Cereal Chemistry* 77, 320–325.
533
- 534 Mercier, C. and Feillet, P. (1975). Modification of carbohydrate components by extrusion-
535 cooking of cereal products. *Cereal Chemistry* 52, 283–297.
536
- 537 Montgomery: Capítulo 11: Métodos de superficies de respuesta y otros enfoques para la
538 optimización de procesos en: Diseño y análisis de experimentos, 2da ed. Editorial
539 Limusa – Wiley, México, 2004, pp. 427–500.
540
- 541 Ramírez-Ortiz, M.E, San Martín-Martínez, E and Martínez- Padilla L.P. (2008).
542 Rheological and thermal properties of extruded mixtures of rice starch and isolated soy
543 protein. *Starch/Stärke* 60, 577–587.
544

- 545 Rindlav-Westling, A., Standing, M., and Getenholm, P. (2002). Crystallinity and
546 morphology of films of starch, amylose and amylopectin blends. *Biomacromolecules*
547 3, 84–91.
- 548
- 549 Rodríguez, G. M. E. Ph. D. Thesis, *CINVESTAV-México*, 1995.
- 550
- 551 Ruiz-Ruiz J., Martínez-Ayala A., Drago S., González R., Betancur-Ancona D., and Chel-
552 Guerrero L. (2008). Extrusion of a hard-to-cook bean (*Phaseolus vulgaris*, L.) and
553 quality protein maize (*Zea mays* L.) flour blend. *Food Science and Technology* 41, 99–
554 807.
- 555
- 556 Shams, H., Tahbaz F., Entezari, M., and Abadi, A. (2008). Effects of cooked lentils on
557 glycemic control and blood lipids of patients with type 2 diabetes. *Atherosclerosis
558 Journal* 3, 215-218.
- 559
- 560 Singh, B., Sekhon, K. S., and Singh, N. (2007). Effects of moisture and level of pea grits on
561 extrusion behaviour and product characteristics of rice. *Food Chemistry* 100, 198–202
- 562
- 563 Tester, R. F., J. Karkalas, and X. Qi. (2004). Starch composition, fine structure and
564 architecture. *Journal of Cereal Science* 39, 151–165.
- 565
- 566 Velázquez-Trujillo, E., Bolaños-Reynoso E., and Pliego-Bravo, Y.S. (2010). Optimización
567 de la producción de carbón activado a partir de bambú. *Revista Mexicana de Ingeniería
568 Química*. 9, 359-366.
- 569
- 570 Wang, S. Y., and Ballington, J. R. (2007). Free radical scavenging capacity and antioxidant
571 enzyme activity in deerberry (*Vaccinium stamineus* L.). *Lebensmittel-Wissenschaft und
572 Technologie* 40, 1352–1361.
- 573
- 574 Yoshimoto, Y., J. Tashiro, T. Takenouchi, and Takeda, Y. (2000). Molecular structure and
575 some physicochemical properties of high-amylose barley starch. *Cereal Chemistry* 77,
576 279-285.
- 577
- 578
- 579
- 580
- 581
- 582
- 583
- 584
- 585

586 Legend tables
587 Table 1. Chemical composition of banana and lentil flours (%)
588 Table 2. Extrusion conditions with actual variable levels for experimental design
589 Table 3. Regression coefficients for second-order model for water absorption index
590 (WAI), water solubility index (WSI), bulk density (BD), maximum viscosity (MV),
591 final viscosity (FV), total starch (TS) and resistant starch (RS) of extrudates
592

593 Legend figures
594 **Fig. 1.** Effect of extrusion variables on water absorption index: extruder
595 temperature vs. moisture content (lentil/ banana flour concentration: 50-50).
596 **Fig. 2.** Effect of extrusion variables on water solubility index: extruder temperature
597 vs. lentil flour (moisture content: 22%).
598 **Fig. 3.** Effect of extrusion variables on bulk density: extruder temperature vs. lentil
599 flour (moisture content: 22%).
600 **Fig. 4.** Effect of extrusion variables on maximum viscosity: extruder temperature
601 vs. lentil flour (moisture content: 22%).
602 **Fig. 5.** Effect of extrusion variables on final viscosity: extruder temperature vs. lentil
603 flour (moisture content: 22%).
604 **Fig. 6.** Effect of extrusion variables on resistant starch: extruder temperature vs.
605 lentil flour (moisture content: 22%).
606
607
608
609
610
611
612
613
614
615
616
617
618
619

4 Table 1. Chemical composition of banana and lentil flours (%)

Component	Lentil flour	Banana flour
Moisture	9.39 ± 0.09	5.77 ± 0.13
Fat ^a	0.97 ± 0.01	0.15 ± 0.04
Protein ^{a,b}	24.59 ± 0.62	2.44 ± 0.09
Ash ^a	2.88 ± 0.06	2.42 ± 0.09
Total starch ^a	39.90 ± 0.52	74.9 ± 0.54
Resistant starch ^a	4.77 ± 0.11	24.6 ± 0.39

5 ^aMean of three replicates ± standard deviation, dry basis.

6 ^bN x 6.25.

7
8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23 Table 2. Extrusion conditions with natural variable levels for experimental design

Run	Natural values		
	Moisture (%)	Temperature (°C)	Lentil flour (%)
1	20.00	145.00	20.50
2	24.00	145.00	20.50
3	20.00	175.00	20.50
4	24.00	175.00	20.50
5	20.00	145.00	79.50
6	24.00	145.00	79.50
7	20.00	175.00	79.50
8	24.00	175.00	79.50
9	18.64	160.00	50.00
10	25.36	160.00	50.00
11	22.00	134.77	50.00
12	22.00	185.23	50.00
13	22.00	160.00	0.39
14	22.00	160.00	99.61
15	22.00	160.00	50.00
16	22.00	160.00	50.00
17	22.00	160.00	50.00
18	22.00	160.00	50.00
19	22.00	160.00	50.00
20	22.00	160.00	50.00

24

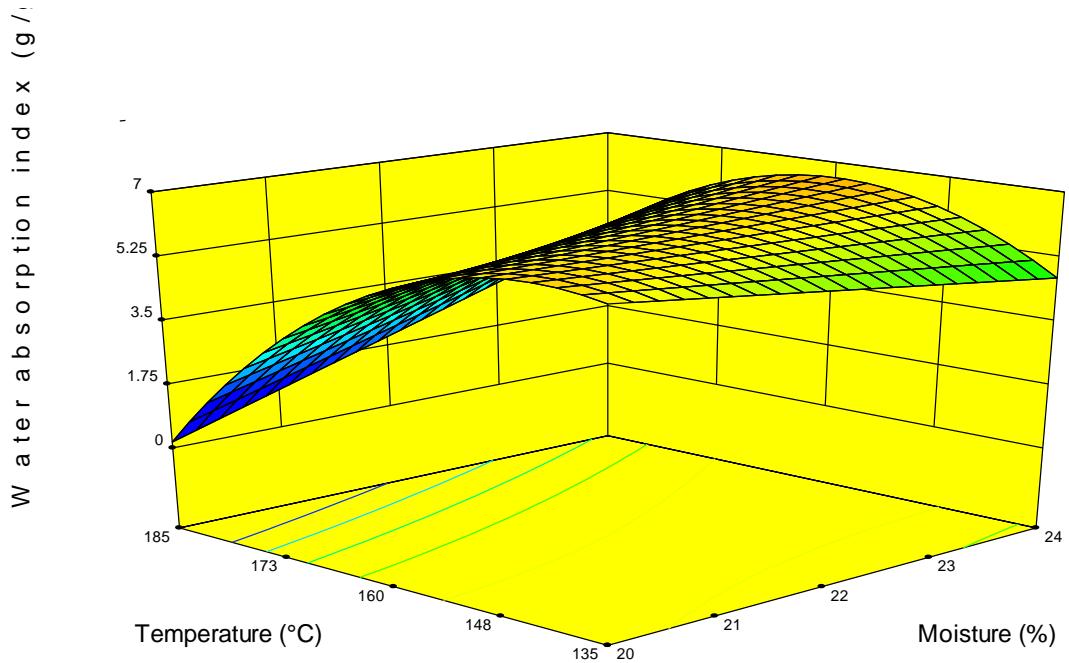
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34

Table 3. Regression coefficients for second-order model for water absorption index (WAI), water solubility index (WSI), bulk density (BD), maximum viscosity (MV), final viscosity (FV), total starch (TS) and resistant starch (RS) of extrudates

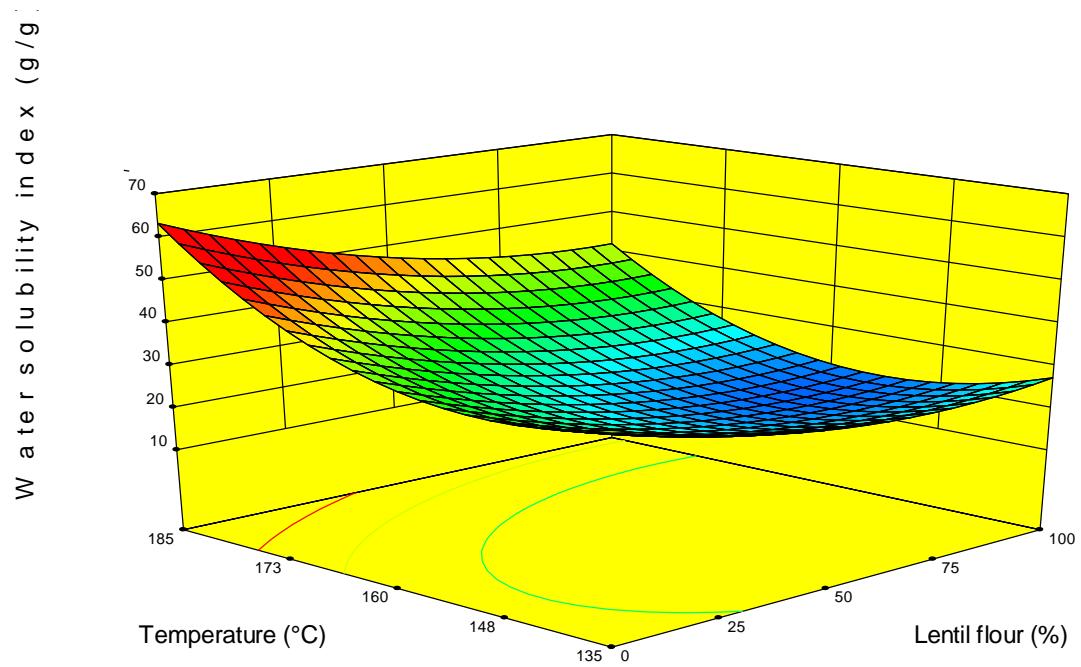
Variable	Water absorption index (g/g)	Water solubility index (%)	Bulk density (g/cm ³)	Maximum viscosity (cPs)	Final viscosity (cPs)	Total Starch (%)	Resistant starch (%)
Intercept	35.1718	204.0040	7.6575	25438.0500	10990.7430	92.4101	8.0389
Moisture content (M)	*-4.4197	2.2916 ^{ns}	*-0.3295	1317.6780 ^{ns}	-475.0094 ^{ns}	5.5690 ^{ns}	*-0.9363
Die temperature (T)	*0.3567	*-2.9187	*-0.0404	*-103.1469	*-62.9949	-0.8288 ^{ns}	0.0425 ^{ns}
Lentil content (C)	-0.3053 ^{ns}	*0.4894	*-0.0210	*-69.2584	*-21.3979	*-0.4747	*0.0097
M ²	ns	ns	*0.0080	ns	*5.4135	ns	ns
T ²	*-0.0034	*0.0214	*0.0001	ns	*0.0852	ns	*-0.0005
C ²	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
MxT	*0.0273	*-0.1548	ns	*3.8583	*81.3750	ns	*0.0063
MxC	ns	ns	*0.0010	ns	ns	ns	ns
TxC	ns	ns	ns	*0.2576	*0.0661	ns	ns
R ²	0.7832	0.8472	0.8367	0.8348	0.8314	0.9137	0.8399
P	0.0084	0.0044	0.0021	0.0007	0.0024	<0.0001	0.0006

37 ^{ns}Non-significant. *Significant $p<0.05$

38
39
40



6
7 **Fig. 1.**
8
9
10
11
12
13



14

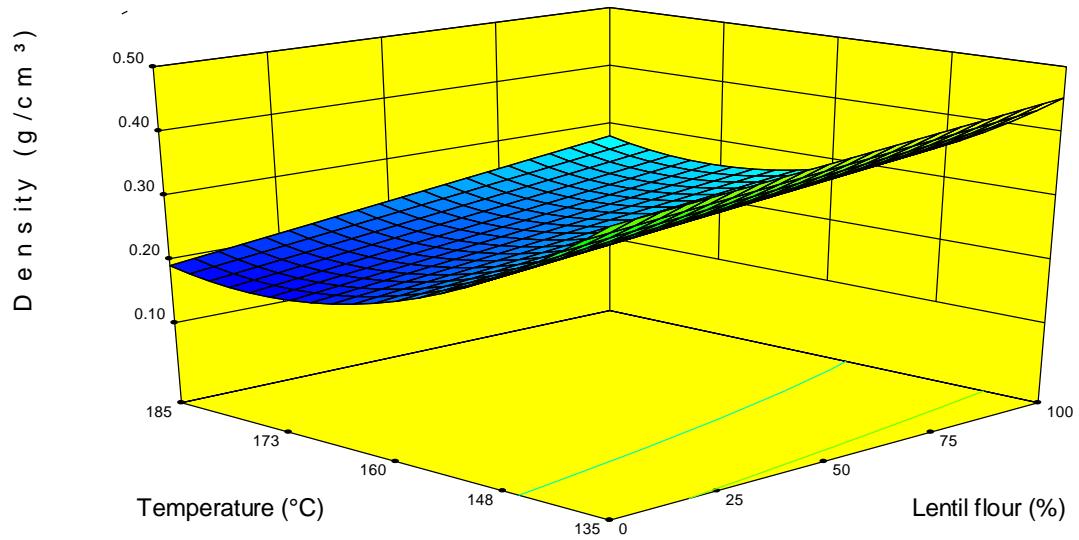
15 **Fig. 2.**

16

17

18

19



20

21 **Fig. 3.**

22

23

24

25

26

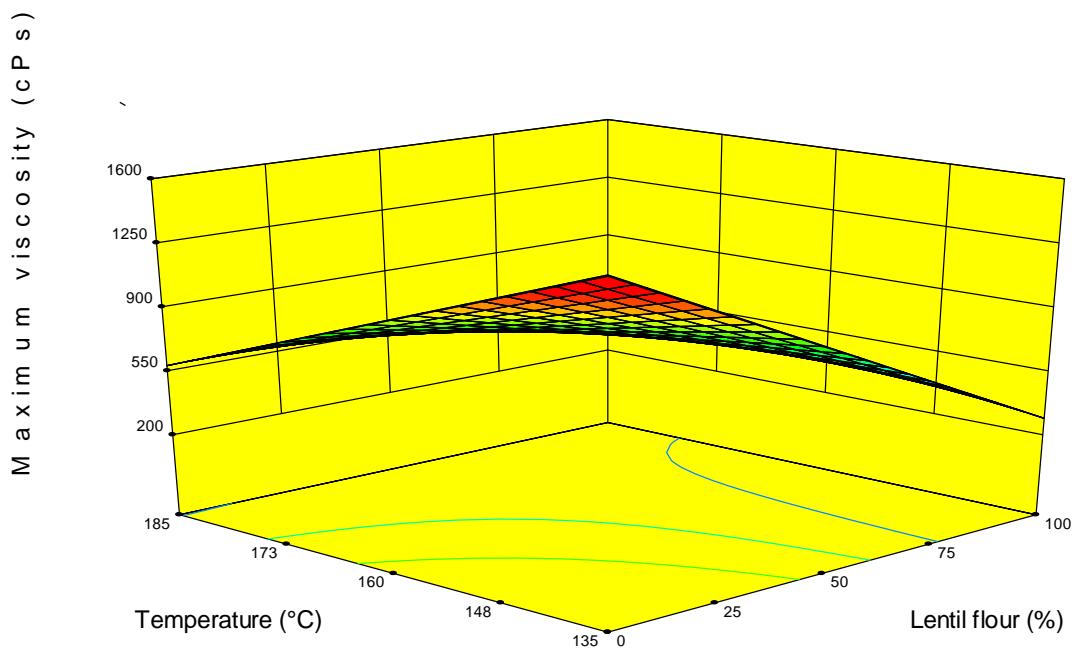
27

28

29

30

31



32

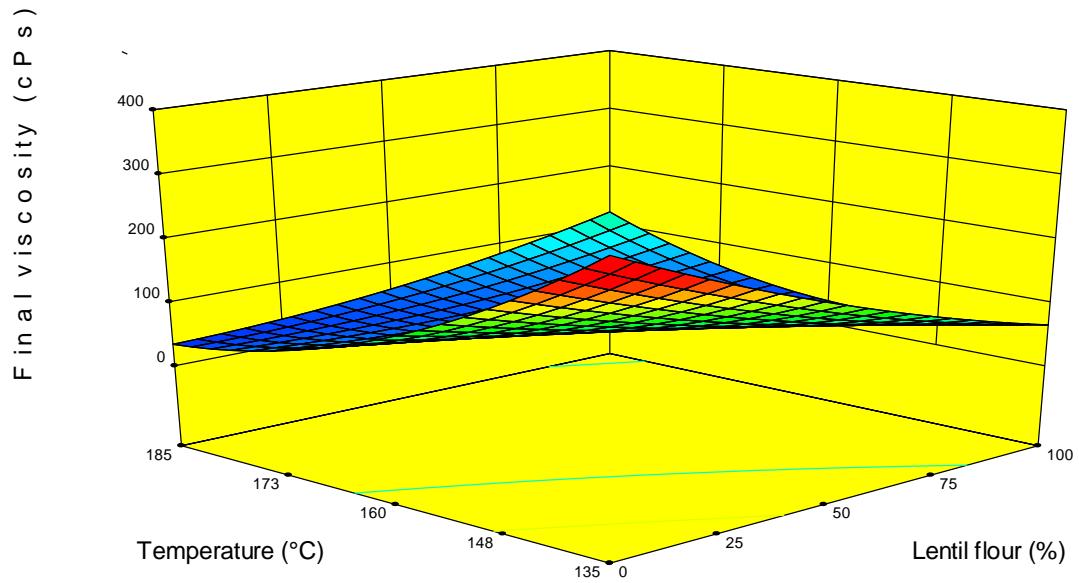
33 **Fig. 4.**

34

35

36

37



38

39 **Fig. 5.**

40

41

42

43

44

45

46

47

48

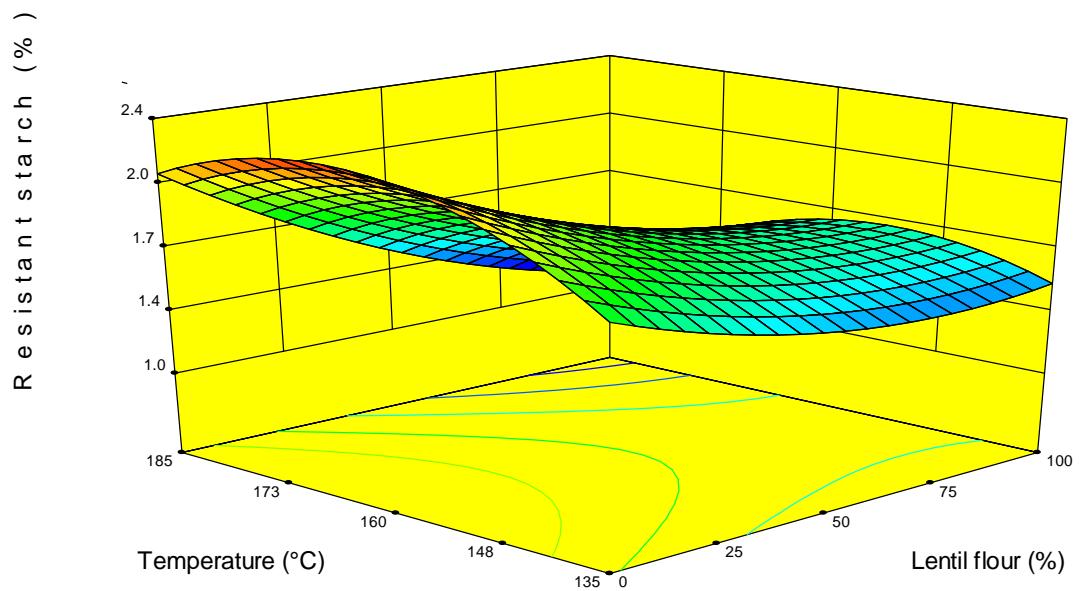
49

50

51

52

53



54

55 **Fig. 6.**
56

CONTENIDO

Página	
RESUMEN	1
ABSTRACT	3
I INTRODUCCIÓN	5
2.1 Extrusión	5
2.2 Operación del extrusor	6
2.3 Efecto de las variables de proceso	7
2.4 Efectos físicos	8
2.4.1 Índice de expansión	8
2.4.2 Color	9
2.4.3 Viscosidad	9
2.4.4 Índice de solubilidad en agua y absorción de agua	10
2.5 Efecto de la extrusión en el almidón	10
2.6 Efecto de la extrusión en la proteína	11
2.7 Alimentos funcionales	12
2.8 Fibra dietética	13
2.8.1 Fibra parcialmente fermentable	14
2.8.2 Fibra totalmente fermentable	15
2.9 Almidón resistente	15
2.10 Fermentación colónica de la fibra	17
2.11 Leguminosas	19
2.12 Lenteja	20
2.13 Plátano	21
2.14 Botanas	22
II JUSTIFICACIÓN	24
III OBJETIVOS	25
4.1 Objetivo general	25
4.2 Objetivos específicos	25

IV HIPÓTESIS	26
V ESTRATEGIA EXPERIMENTAL	27
VI MATERIALES Y MÉTODOS	28
7.1 Obtención de las harinas de plátano y lenteja	28
7.2 Análisis químico proximal	28
7.3 Diseño experimental	29
7.4 Preparación de las mezclas de harinas	29
7.5 Proceso de extrusión	30
7.6 Caracterización de los extrudidos	30
7.7 Análisis funcional de los productos extrudidos	32
7.7.1 Densidad	32
7.7.2 Índice de absorción de agua (IAA), índice de solubilidad en agua (ISA).	32
7.7.3 Color	33
7.7.4 Análisis de viscosidad	33
7.8 Análisis nutricional de los productos extrudidos	34
7.8.1 Determinación de almidón total	34
7.8.2 Determinación de almidón resistente	35
7.9 Análisis estructural de los productos extrudidos	36
7.9.1 Microscopía electrónica de barrido	36
7.9.2 Difracción rayos X	36
7.10 Dietas para animales de experimentación	37
7.10.1 Animales de experimentación	38
7.10.2 Toma de muestra sanguínea	38
7.10.3 Obtención del suero	38
7.10.4 Sacrificio de los animales	39
7.10.5 Determinaciones clínicas	39
VII RESULTADOS Y DISCUSIÓN	40
8.1 Composición química proximal de las harinas	40
8.2 Obtención de extrudidos con mezclas de harina de plátano-lenteja	41

8.3 Densidad	41
8.4 Índice de solubilidad en agua	45
8.5 Índice de absorción en agua	47
8.6 Color	49
8.7 Pruebas de viscosidad	52
8.7.1 Viscosidad máxima	52
8.7.2 Viscosidad final	57
8.8 Almidón total y almidón resistente	60
8.9 Difracción de rayos X	62
8.10 Microscopía electrónica de barrido	64
8.11 Peso de las ratas	67
8.12 Determinaciones clínicas	68
VIII CONCLUSIONES	78
IX BIBLIOGRAFÍA	79
X ANEXO ESTADÍSTICO	91

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Productos extrudidos elaborados a base de mezclas de harina de plátano/harina de lenteja bajo diferentes condiciones de humedad y temperatura.	41
2	Efecto de la proporción de harina de lenteja y temperatura de extrusión en la densidad (a) humedad 20%, (b) humedad 22% y (c) humedad 24%.	44
3	Efecto de la proporción de harina de lenteja y temperatura de extrusión en el índice de solubilidad en agua (a) humedad 20%, (b) humedad 22% y (c) humedad 24%.	46
4	Efecto de la proporción de harina de lenteja y temperatura de extrusión en el índice de absorción de agua (a) humedad 20%, (b) humedad 22% y (c) humedad 24%.	48
5	Efecto de la proporción de harina de lenteja y temperatura de extrusión en luminosidad (a) humedad 20%, (b) humedad 22% y (c) humedad 24%.	51
6	Cuvas de viscosidad de harina de lenteja y harina de platano sin procesar (a) y curvas de viscosidad de las harinas de lenteja y plátano sometidas a diversas condiciones de extrusión (b).	5
7	Efecto de la proporción de harina de lenteja y temperatura de extrusión en viscosidad máxima (a) humedad 20%, (b) humedad 22% y (c) humedad 24%.	56
8	Efecto de la proporción de harina de lenteja y temperatura de extrusión en viscosidad final (a) humedad 20%, (b) humedad 22% y (c) humedad 24%.	59
9	Efecto de la proporción de harina de lenteja y temperatura	61

	de extrusión en el contenido de almidón resistente (a) humedad 20%, (b) humedad 22% y (c) humedad 24%.	
10	Difractograma de extrudidos de harina de plátano y lenteja con baja y alta proporción de AR, harina de lenteja sin procesar y harina de plátano sin procesar.	63
11	(a) Micrografía de extrudido 0.39/99.61 (lenteja/plátano) y (b) extrudido 99.61/0.29 (lenteja/plátano).	65
12	(a) Micrografía de extrudido 2.4% AR y (b) extrudido con 1.3% AR.	66
13	Concentración de colesterol total en suero de rata.	69
14	Concentración de colesterol de baja densidad en suero de rata.	70
15	Concentración de colesterol de alta densidad en suero de rata.	71
16	Concentración de triglicéridos en suero de ratas.	72
17	Concentración de glucosa en suero de ratas.	73
18	Peso relativo de los hígados.	74

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1 Diseño experimental	31
2 Composición porcentual de dietas hipercolesterolémica para ratas de experimentación	37
3 Composición química proximal de harina de plátano y harina de lenteja (%)	40
4 Efecto de las condiciones de extrusión en los parámetros L, a* y b* de los extrudidos.	50
5 Variación de peso y alimento consumido por ratas después de 28 días de alimentación.	68

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

AGCC	Ácidos grasos de cadena corta
AR	Almidón resistente
ARV	Analizador Rápido de Viscosidad
C	Concentración
g	Gramos
h	Hora
H	Humedad
Hz	Hertz
IAA	Índice de Absorción de Agua
ISA	Índice de Solubilidad en Agua
mL	Mililitro
mm	Milímetros
T	Temperatura
VF	Viscosidad Final
VM	Viscosidad Máxima
°C	Grados centígrados
µL	Microlitros

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue obtener y caracterizar extrudidos elaborados con harinas de lenteja y plátano inmaduro, para desarrollar un producto nutracéutico con características funcionales aceptables y buena proporción de componentes no digeribles como fibra dietética y almidón resistente, ya que ambos se consideran como componentes que podrían ayudar a controlar enfermedades como diabetes, altos niveles de colesterol en sangre y cáncer de colon. La extrusión de las harinas se realizó en un extrusor de tornillo simple (CICATA-IPN, Distrito Federal, México) utilizando tres variables de proceso que fueron temperatura de 145 a 175°C, humedad de 20-24% y diferentes proporciones de harinas (20.5/79.5 a 79.5/20.5 de harinas de lenteja/plátano respectivamente). Una vez obtenidos los extrudidos se realizó la caracterización funcional (densidad, color, viscosidad, calorimetría diferencial de barrido), estructural (difracción de rayos X y microscopia electrónica de barrido) y nutricional (determinación de almidón total y almidón resistente). Los efectos de las variables de proceso fueron analizados utilizando un diseño central compuesto con seis repeticiones en el punto central (Desig Expert V 5.0.4). Los resultados fueron procesados mediante la metodología de superficie de respuesta. Los modelos matemáticos obtenidos indicaron que las variables independientes que presentaron el mayor efecto en la densidad de los productos extrudidos fueron la proporción de harinas, así como la temperatura y humedad de extrusión de las mezclas. Mientras que el ISA (índice de solubilidad de agua) se vio afectado principalmente por la concentración de harina y temperatura utilizadas en el proceso de extrusión, el contenido de AR en los extrudidos se vio afectado por las concentraciones de harina, humedad y temperatura. El producto extrudido con 20% humedad, 145°C y 20.50/79.5 de harinas de lenteja/plátano, fue el producto óptimo tomando en consideración la densidad (0.17 g/L), índice de solubilidad en agua (24.78 g/100 g muestra b.s.) y

contenido de almidón resistente (2.4 g /100 g muestra b.s.). La difracción de rayos X y la microscopía electrónica de barrido mostraron que la extrusión pudo modificar la estructura inicial de los gránulos de almidón presentes en la harina de plátano inmaduro, así como la estructura de las proteínas que forman parte de la lenteja. Al evaluar el efecto de este alimento extrudido en animales de experimentación alimentados con una dieta hipercolesterolémica se pudo observar un descenso del 31.95% de glucosa y un 23.81% de colesterol, por lo tanto podemos recomendar este producto como un alimento funcional.

ABSTRACT

The aim of this work was to obtain and characterize extruded of lentil/banana unripe flours, to develop a nutraceutical product with acceptable functional characteristics and high proportion of non-digestible components as dietary fiber and resistant starch, both consider as components that may help control diseases like diabetes, high blood cholesterol and colon cancer. The extrusion of flours was performed in a single screw extruder (CICATA-IPN, Mexico City, Mexico) using three process variables which were temperature from 145 to 175 ° C, moisture 20-24% and different proportions of flours (79.5/20.5 20.5/79.5 lentil / banana flours respectively). Once obtained the extrudates was assessed functional characterization (density, color, viscosity, differential scanning calorimetry), structural (X-ray diffraction and scanning electron microscopy) and nutritional (determination of total starch and resistant starch). The effects of process variables were analyzed using a central composite design with six replicates at the center point (Desig Expert V 5.0.4). The results were processed by response surface methodology. The mathematical models obtained indicated that the independent variables that had the greatest effect were the proportion of flour, as well as extrusion temperature and moisture content. While the ISA (solubility index of water) was mainly affected by the concentration and temperature of flour used in the extrusion process, the RS content in the extrudates was affected by proportions of flours, moisture content and temperature. The product extruded with 20% moisture, 145°C and lentil/banana flours 20.50/79.5 was the best product taking into consideration the density (0.17 g / L), water solubility index (24.78 g/100 g sample b.s.) and resistant starch (2.4 g / 100 g sample b.s.). X-ray diffraction and scanning electron microscopy showed that extrusion could modify the initial structure of the starch granules present in banana unripe flour as well as the structure of proteins that are part of the lentil. In assessing the effect of this food extruded

in experimental animals fed a hypercholesterolemic diet we observed a decrease of 31.95% of glucose and 23.81% of cholesterol, therefore we recommend this product as a functional food.

I.- INTRODUCCIÓN

1.1 Extrusión

La extrusión es un proceso importante en la elaboración de alimentos. Es capaz de efectuar un número de operaciones, incluyendo cocción, formación, texturización y deshidratación de materiales alimenticios, particularmente aquellos como granos, leguminosas y semillas. Estas operaciones se llevan a cabo en una pieza de equipo compacto, el cual desperdicia poca energía y necesita un espacio pequeño. La cocción por extrusión es versátil y de bajo costo debido a un uso más eficiente de la energía y mayor control del proceso. Los extrusores se pueden utilizar para realizar diferentes funciones como mezclar, formar, cocer y secar (Adecina et al., 1998; Liu et al., 2000; Gujska y Khan 1991).

En el extrusor, las materias primas están sujetas a procesos mecánicos (calentamiento, compresión, fricción e hinchamiento), que desorganizan completamente su estructura, causando gelatinización del almidón, desnaturalización de las proteínas, inactivación de enzimas, microorganismos y factores antinutricionales (inhibidores de tripsina, taninos y fitatos), y retiene el color y sabor natural de los alimentos (Camire et al., 1990., Adecina et al., 1998., Fellows, 2000., Bhandari et al., 2001).

Hoy en día, existen en el mercado diferentes tipos de alimentos elaborados a partir del proceso de extrusión, entre los cuales se encuentran las pastas, cereales para desayuno, botanas, alimentos para bebés y alimentos para mascotas. Es un proceso continuo con alta productividad que retiene nutrientes, debido a que las altas temperaturas de operación se llevan a cabo en tiempos cortos (Guy, 2001). Los alimentos que contienen almidón y/o proteína son plastificados y cocinados, debido a transformaciones moleculares y

reacciones químicas, que ocurren como resultado de la combinación de humedad, presión, temperatura y esfuerzo de corte (Castells et al., 2005). Los componentes de los materiales alimenticios que tienen un papel importante en el proceso de extrusión son: humedad, almidón, proteínas, lípidos y fibra.

1.2 Operación del extrusor

El proceso fundamental de extrusión consiste en un aparato generador de presión, el cual causa que el producto se mueva como un líquido en un flujo laminar a través de una resistencia. Estos dos componentes, flujo y resistencia, determinan el proceso de extrusión y el tipo de producto que se genera. La presión y el flujo es causado principalmente por tornillos aunque pueden ser causados también por pistones y rodillos. Los tornillos movilizan el producto hacia adelante, generando presión, además de mezclar el producto, ayudando a la generación de transferencia de calor, a la texturización y homogeneización.

Los materiales utilizados en la extrusión, son principalmente sólidos humedecidos o masas altamente viscosas y a medida que gira el tornillo, el material es arrastrado a la salida del dado, el canal de flujo está delimitado por dos superficies sólidas que son el tornillo y barril. La fricción con el material en movimiento se produce en ambas superficies. La configuración del tornillo es tal que el flujo a lo largo del canal se reduce progresivamente y en consecuencia el material es comprimido de forma progresiva a medida que avanza. La reducción del área de flujo se puede conseguir por varios tipos de configuraciones de tornillo (Harper, 1981).

A través de la fricción, la mayor parte de la energía utilizada para girar el tornillo se disipa en el material en forma de calor. Por lo tanto, una parte del calor entregado al producto se genera “in situ”. En consecuencia, el

calentamiento en un extrusor de cocción es muy rápido; debido a la alta presión el material húmedo puede ser calentado a temperaturas muy por encima de 100°C (a veces hasta a 180-200°C). Cuando la presión se libera a la salida de la boquilla, se evapora agua dando como resultado la expansión del producto (Zeki, 2009). Como resultado de la compresión, se forma un gradiente de presión en dirección al movimiento de la masa, por lo tanto, el flujo a lo largo del canal contiene dos componentes: el flujo de arrastre desde el extremo de la alimentación hasta el final del dado (causado por el empuje mecánico de los giros del tornillo) y la presión impulsada por el flujo de apoyo en la dirección de la salida (causada por la diferencia de presión entre los dos extremos del extrusor (Zeki, 2009).

El extrusor de tornillo simple presenta tres secciones:

Sección de alimentación: la función principal de esta sección es la de actuar como un transportador de tornillo, el transporte del material desde la entrada de alimentación a las secciones siguientes

Sección de transición: esta es la sección donde la materia se comprime y se calienta.

Sección de fusión o transición de fase: esta es la sección donde la mayoría de los objetivos del proceso de extrusión (mezclado, texturización, reacciones químicas, etc.) se producen a través de corte y mezcla.

1.3 Efecto de las variables de proceso

Las variables de proceso en la extrusión son determinantes para obtener el producto deseado, dentro de las variables se encuentra el material a extrudir,

la temperatura, humedad, velocidad de tornillo, el diseño del tornillo, cañón, diseño del dado, estas variables le proporcionaran a los productos extrudidos diversas características físicas y químicas.

1.4 Efectos físicos

Los alimentos sometidos a un proceso de extrusión, son generalmente materiales granulares que sufren un pre tratamiento y que mantienen su estructura particular. A medida que la temperatura, presión y fuerza de corte aumentan, la estructura granular desaparece y se obtiene una masa fundida, en analogía con el fenómeno de la fusión que ocurre en la extrusión de polímeros de plástico. A medida que el derretimiento continúa su movimiento, una nueva estructura interna y un cierto grado de separación de fases se puede producir, principalmente como resultado de la fuerza de corte. La orientación de las moléculas de proteína se cree que es el mecanismo básico de texturización de extrusión de algunas harinas (Stanley, 1989).

El contenido elevado de humedad en el proceso de extrusión genera un producto con una densidad mayor, baja expansión e índice de absorción de agua, dando sin embargo un alto índice de solubilidad en agua; caso contrario ocurre con altas temperaturas ya que tiende a reducir la densidad del producto, el índice de absorción del agua y la dureza (Qing-Bo, 2006).

1.4.1 Índice de expansión

La expansión se ve afectada por el contenido y composición del almidón, proteína, lípidos y fibra. La relación de amilosa-amilopectina en el almidón es la que más influencia tiene sobre expansión del producto debido a que un alto contenido de amilopectina provoca una pobre expansión (Bhattacharya y

Hanna, 1987). La fragmentación de las moléculas de almidón es la que controla el grado de expansión. Se cree que la expansión en los materiales extrudidos en la salida del dado ocurre como un resultado de una desorientación de macromoléculas las cuales fueron orientadas dentro del dado por el alto esfuerzo de corte. El grado de expansión afecta la densidad del producto, fragilidad y suavidad. La expansión se ve modificada por la proporción de proteína, a mayor contenido de proteína menor expansión (Fernández-Gutiérrez, et al., 2004).

1.4.2 Color

Las variables de humedad y temperatura afectan el color, a mayor temperatura éste tiende a ser más oscuro. Sin embargo a mayor contenido de humedad los productos obtenidos son más claros. El oscurecimiento de la muestra está asociado con la reacción de Maillard entre los azúcares reductores y el grupo amino libre de los aminoácidos de la proteína, por otra parte también la oxidación lipídica produce oscurecimiento en el producto extrudido (Fernández-Gutiérrez, et al., 2004).

1.4.3 Viscosidad

La viscosidad tiene cierta dependencia al grado de gelatinización y la cantidad de gránulos de almidón fragmentados. Se reportado que durante la extrusión ocurre una fragmentación del gránulo de almidón, disminuyendo la viscosidad debido al fraccionamiento de los gránulos (Fernández-Gutiérrez, et al., 2004). La extensión de la fragmentación del almidón depende de las condiciones de operación del extrusor tales como la velocidad del tornillo, temperatura y contenido de humedad (Davidson et al., 1984).

Onwulata et al., (2006) siguieren que un alto contenido de proteína del material a extrudir produce una baja viscosidad y reducción de la expansión del extrudido. Della Valle et al., (1996) encontraron que la viscosidad decrece con la disminución del contenido de almidón.

1.4.4 Índice de solubilidad y absorción de agua

La solubilidad en agua puede ser usada como un indicador de la degradación de las macromoléculas, midiendo la cantidad de componentes solubles del almidón después de la extrusión (Quing-Bo, 2006), la cual tiende a aumentar cuando se utilizan temperaturas altas, este aumento de temperatura produce la degradación del almidón. El índice de solubilidad en agua tiende a incrementarse con el aumento de la velocidad de tornillo y la temperatura, sin embargo, disminuye cuando la humedad aumenta (Tang y Ding, 1994).

El índice de absorción de agua es la cantidad de agua absorbida por el almidón, el peso del gel obtenido por gramo de muestra seca, puede ser usado como un índice de gelatinización que se asocia a la viscosidad debido a que el almidón absorbe agua y se hincha, modificando así su viscosidad. En cambio la absorción de agua disminuye con el aumento en la dextrinización del almidón (Fernández-Gutiérrez, et al., 2004). El índice de absorción de agua disminuye con el aumento en la velocidad del tornillo, la temperatura de extrusión y el contenido de humedad (Quing-Bo, 2006).

1.5 Efecto de la extrusión en el almidón

Los materiales ricos en almidón más usados para obtener productos extrudidos son el maíz, trigo, arroz, avena y papa. Bajo las condiciones de extrusión (altas temperaturas, presiones y fuerza de corte), los gránulos de almidón se rompen

y funden a bajos contenidos de humedad. En ambos casos, la conversión del almidón lleva a la pérdida de la estructura cristalina, para formar una masa amorfa fluida. Esto ayuda a retener los gases liberados durante el proceso de expansión en la matriz, permitiendo la formación de una estructura crujiente. En este proceso, el almidón contribuye a la formación de gel y viscosidad en la cocción de la pasta, los humanos y otras especies monogástricas no pueden digerir fácilmente el almidón sin gelatinizar. La gelatinización puede llevarse a cabo en niveles de humedad de 12-22%, lo cual no puede lograrse con otros procesos empleados en la industria de los alimentos.

1.6 Efecto de la extrusión en la proteína

La digestibilidad de las proteínas es mayor en los productos extrudidos comparados con los productos sin extrudir. Esto pudiera deberse a la desnaturalización de las proteínas y la inactivación de los factores antinutricionales que impiden su digestión. El valor nutricional de las proteínas vegetales se incrementa por condiciones de extrusión suaves, esto pudiera ser el resultado de la desnaturalización de las proteínas y la inactivación de los inhibidores de enzimas presentes en los alimentos vegetales crudos, los cuales pueden generar nuevos sitios para el ataque enzimático. En general, la cocción por extrusión es la destrucción de factores antinutricionales, especialmente inhibidores de tripsina, taninos y fitatos, los cuales pueden ser la causa de la inhibición de la digestibilidad de las proteínas (Alonso et al., 2000). Las altas temperaturas de extrusión, tiempos de residencia cortos y una baja humedad son las variables claves para la destrucción de inhibidores de tripsina. La extrusión ha demostrado ser muy efectiva en la reducción o eliminación de la actividad de la lectina en harinas de leguminosas. La cocción por extrusión es más efectiva en la reducción o inactivación de la actividad de la lectina comparado con otros tratamientos de calor-humedad.

1.7 Alimentos funcionales

El concepto de alimento funcional, fue propuesto por primera vez en Japón en la década de los ochentas, refiriéndose a aquellos alimentos procesados los cuales contienen ingredientes que además de cumplir su función nutricional tienen un efecto benéfico en las funciones fisiológicas del organismo humano (Arai, 1996).

En Europa, se define alimento funcional a “aquel que satisfactoriamente ha demostrado afectar benéficamente una o más funciones específicas en el cuerpo, más allá de los efectos nutricionales adecuados en una forma que resulta relevante para el estado de bienestar y salud o la reducción de riesgo de una enfermedad” (Roberfroid, 2000).

Hasta la fecha, ha sido muy difícil llegar a un concepto general de lo que es un alimento funcional, debido a que éstos representan un concepto más que un conjunto bien definido de productos alimenticios. En 1999 en el Documento de Consenso del Proyecto de la Unión Europea referido a la Acción Concertada sobre Ciencia de los Alimentos Funcionales en Europa (FUFOSE) se propuso la siguiente definición:

“Un alimento puede considerarse funcional si se demuestra satisfactoriamente que ejerce un efecto benéfico sobre una o más funciones selectivas del organismo, además de sus efectos nutritivos intrínsecos, de tal modo que resulte apropiado para mejorar el estado de salud y bienestar, además de reducir el riesgo de enfermedad, o ambas cosas. Éstos deben seguir siendo alimentos, y se deben demostrar sus efectos en las cantidades en que normalmente se consumen en la dieta. No se trata de comprimidos ni cápsulas, sino de alimentos que forman parte de un régimen normal”.

El interés por el desarrollo de alimentos funcionales ha aumentado de una manera considerable durante los últimos años. En el mercado existen diversos productos industrializados en los cuales se puede emplear carne, lácteos, cereales, leguminosas, oleaginosas y frutos (Cardoso et al., 2001).

1.8 Fibra dietética

El concepto de fibra ha evolucionado en las últimas décadas. Hasta los años setenta la fibra, era llamada fibra bruta o fibra cruda, y se consideraba como una fracción de los alimentos de valor energético y nutricional nulo y, por tanto los productos con mínimo contenido de fibra eran los preferidos por la industria alimentaria. A finales de la década de los setenta, surgió el concepto de fibra con significado nutricional y científico (fibra dietética o alimentaria), lo que dejó obsoleto el concepto de fibra bruta, vigente hasta ese momento. Se estableció la definición de fibra como el conjunto de polisacáridos y lignina que son resistentes a la hidrólisis por las enzimas digestivas del humano. Con base en diversos estudios epidemiológicos surgió la hipótesis de que la deficiencia de fibra en la dieta podía ser un factor significativo que, conjuntamente con otros relacionados con la alimentación y el estilo de vida, propiciaba el desarrollo de enfermedades características de los países desarrollados (cáncer de colon, trastornos intestinales, diabetes y enfermedades cardiovasculares). Actualmente, la fibra dietética es el principal ingrediente en alimentos funcionales (constituye más del 50% del total de ingredientes usados a nivel mundial) y se está incorporando progresivamente a todo tipo de alimentos y bebidas como factor de calidad nutricional muy apreciado por los consumidores (Mazza, 1998, Packer et al., 1999).

La AACC (Asociación de Químicos en Cereales) en el 2001 definió a la fibra dietética como “la parte comestible de las plantas o carbohidratos análogos que

son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado del hombre con completa o parcial fermentación en el intestino grueso. La fibra dietética incluye polisacáridos, oligosacáridos, lignina y sustancias asociadas de la planta. Las fibras dietéticas promueven efectos fisiológicos beneficiosos como el laxante, atenuando los niveles de colesterol y/o la glucosa en sangre”.

Sin embargo, el Comité de Alimentos y Nutrición del Instituto de Medicina añadió a la definición previa de fibra dietética el concepto de fibra funcional o añadida que incluye otros hidratos de carbono absorbibles como el almidón resistente, la inulina, diversos oligosacáridos y disacáridos, llegando así al concepto de fibra total, como la suma de fibra dietética más fibra funcional. Desde el punto de vista fisiológico, la fibra dietética ha sido subdividida en dos grandes grupos dependiendo su grado de fermentabilidad, en fibra parcialmente fermentable y totalmente fermentable. La fermentable es soluble y viscosa y la escasamente fermentable es insoluble y no viscosa.

1.8.1 Fibra parcialmente fermentable

Comprende aquella fibra en la que la celulosa es el componente mayoritario esencial y la lignina se combina de forma variable, incluyendo además algunas hemicelulosas. Entre las fuentes más importantes que poseen o contienen este tipo de fibra se encuentran el centeno, los productos derivados del arroz y los cereales integrales, mismos que forman parte de la dieta diaria del ser humano. Estas fibras son escasamente degradadas por la acción de las bacterias colónicas, por lo que se excretan prácticamente íntegras en las heces, dándole consistencia a las mismas, aumentando el volumen fecal y disminuyendo el tránsito intestinal de los alimentos (Tovar et al., 1992)

1.8.2 Fibra totalmente fermentable

Incluyen gomas, mucílagos, sustancias pécticas y algunas hemicelulosas, son de naturaleza viscosa y se encuentran fundamentalmente en frutas, leguminosas y cereales como la cebada y la avena. Desde el punto de vista de funcionalidad intestinal, disminuyen la velocidad del tránsito intestinal. La fibra fermentable se caracteriza por ser rápidamente degradada por la microflora anaerobia del colon, y el proceso de fermentación depende en gran medida del grado de solubilidad y del tamaño de sus partículas, de manera que la fibra más soluble y con menor tamaño de partícula tiene un mayor y más rápido grado de fermentación. Este proceso, da lugar, entre otros productos, a los ácidos grasos de cadena corta (AGCC).

Para el mantenimiento del equilibrio intestinal, es preciso que en el colon se fermenten diariamente 60 g de materia orgánica, fundamentalmente hidratos de carbono no digeribles; es decir, 60g de fracción indigerible de los alimentos. Dado que la ingesta media de fibra es de alrededor de 20 g nos encontramos con un déficit de 40 g. Este déficit sólo se puede subsanar añadiendo la fibra dietética (que representa entre 30 a 50 g/día) de la cual el almidón resistente, puede aportar entre 15 a 20 g/día; cierta cantidad de proteínas que escapan de la digestión en el intestino delgado, entre 2-12 g/día; y por último el moco intestinal, que representaría entre 2-3 g/día de sustrato fermentable en el colon.

1.9 Almidón resistente (AR)

Éste es definido como la suma de almidón y los productos de la degradación que no son absorbidos en el intestino delgado de individuos sanos (Asp, 1992). La clasificación del almidón resistente fue propuesta por Englyst et al., (1992),

quienes lo dividieron en tres categorías (tipo 1,2 y 3), apareciendo después un cuarto tipo (tipo 4) dado por Asp y Björck (1992).

Almidón resistente tipo 1: Es el almidón físicamente inaccesible, se encuentra encapsulado en las paredes celulares de las plantas, granos y semillas parcialmente molidos (Englyst et al., 1992).

Almidón resistente tipo 2: Compuesto por gránulos de almidón nativo, se encuentra en alimentos que contienen almidón crudo (tubérculos sin cocinar), la gran densidad y cristalinidad parcial reduce la susceptibilidad enzimática (Gallant, 1992).

Almidón resistente tipo 3: Es una fracción de almidón, que se forma después de ciertos tratamientos de calor-humedad. Este tipo de almidón se puede encontrar en pan, papas cocidas y enfriadas, así como en frijoles o chícharos enlatados (Sievert y Pomeranz, 1989). La elaboración y almacenamiento de estos productos generan el fenómeno de retrogradación, que a su vez, crea una estructura que no puede ser desdoblada por las enzimas. La generación de almidón resistente tipo 3 se debe principalmente al aumento de interacciones entre los polímeros de almidón (Lehmann et al., 2002). Se cree que la resistencia resulta de un cambio en el estado físico más que en el químico durante el enfriamiento y/o almacenamiento después del cocimiento, lo que comúnmente se conoce como retrogradación del almidón (Asp y Björck, 1992).

Almidón resistente tipo 4: Es la resistencia enzimática ocasionada por una modificación química o térmica del almidón (Björck y Asp, 1989).

Los factores que influencian la formación de AR son: la temperatura de procesamiento, condiciones de almacenamiento, concentración de almidón y la

presencia de lípidos o de compuestos de bajo peso molecular, tales como azúcares (Schmiedl et al., 2000), relación amilosa-amilopectina, origen botánico, el estado de la pared del grano (Björck et al., 1994), proceso culinario (cocción, fritura), características del proceso (ciclos de calentamiento/recalentamiento, temperatura) y los métodos de conservación del alimento, así como la relación masa/agua. Una de las tendencias actuales es la preparación de alimentos con un alto contenido de AR, pues como ya se sabe, el AR se comporta de forma similar a una fibra, causando efecto de saciedad, capta y neutraliza algunos nutrientes y mejora el tránsito intestinal, trayendo como consecuencia beneficios a la salud (Bello-Pérez y Paredes-López, 1999).

La ruta que el AR sigue en el sistema digestivo es la siguiente: El almidón es ingerido a través de los alimentos, llegando al intestino delgado donde las enzimas no pueden desdoblarlo para su absorción, por lo que pasa al intestino grueso donde es fermentado por la microflora colónica (Bravo et al., 1998), produciendo ácidos grasos de cadena corta, tales como el ácido butírico del cual se producen cantidades mayores, comparada con la producida por la fibra dietética soluble, la cual participa en la prevención de cáncer de colon; también se produce ácido acético que regula el metabolismo de glucosa, y el ácido propiónico que disminuye la síntesis hepática del colesterol y también participa en el metabolismo de glucosa (García-Peris et al., 2002).

1.10 Fermentación colónica de la fibra

Todos aquellos compuestos que llegan al colon son sustratos potenciales de fermentación. En su mayoría son componentes de la dieta (almidón, fibra, proteína, lípidos, polifenoles, oligosacáridos, etc.), aunque una proporción considerable tiene procedencia endógena (mucina, células epiteliales, enzimas, etc.) (Cummings y Macfarlane, 1991). La fracción mayoritaria de carbohidratos

indigeribles que llega al colon está constituida por almidón resistente que es fermentado casi en su totalidad por las bacterias intestinales (Muir et al., 1994; Phillips et al., 1995). Desde un punto de vista cuantitativo, la fibra dietética es el segundo sustrato mayoritario para la fermentación colónica, su fermentación está determinada por sus propiedades fisicoquímicas, su solubilidad en agua, el tamaño de partícula, y la presencia de otros componentes vegetales capaces de inhibir la actividad bacteriana.

Los AGCC se generan en el metabolismo del ácido pirúvico producido por la oxidación de la glucosa a través de la vía glucolítica de Embden-Meyerhof (Wolin y Miller, 1983). Existen dos vías para la metabolización del piruvato. En una de ellas se genera propionato, a través del succinato, en la otra vía se convierte el piruvato en acetil CoA, que posteriormente es hidrolizado para formar acetato o bien reducido para producir butirato.

Los principales AGCC: acetato, propionato y butirato son obtenidos en la fermentación colónica de la fibra y representan el sustrato energético fundamental del colonocito. El butirato y los otros AGCC contribuyen en un 80% a los requerimientos energéticos del colonocito y en un 5-10% al total de los requerimientos energéticos del individuo (Mc Neil, 1984). Una vez absorbidos son metabolizados por el epitelio colónico. Diversos estudios han demostrado que el orden de utilización de los AGCC por el colonocito es butirato > acetato > propionato (Roediger, 1982). La mayoría del butirato (aproximadamente el 90%) y entre el 10 y el 50% del propionato es metabolizado por la mucosa colónica. El remanente del propionato y el acetato alcanzan el hígado.

El propionato será utilizado como sustrato para la gluconeogénesis y el acetato será metabolizado dando lugar a glutamina, cuerpos cetónicos, acetoacetato y β

hidroxibutirato (Rombeau, 1990). Estos alcanzarán el intestino delgado, siendo de los principales sustratos energéticos del enterocito, fundamentalmente, la glutamina.

A nivel sistémico, los AGCC, van a regular el metabolismo lipídico y de la glucosa. En cuanto al metabolismo lipídico, se ha demostrado que el ácido propiónico disminuye la síntesis hepática de colesterol, por inhibición de la actividad de la hidroximetilglutaril coenzima A. El nivel de colesterol alto en la sangre es un riesgo importante para las enfermedades cardiovasculares.

Por otra parte el acetato y el propionato regulan el metabolismo de la glucosa, en tanto que disminuyen la glucemia posprandial y la respuesta insulínica. Por lo que la ingesta de fibra soluble incluyendo el AR puede ayudar al tratamiento de diabetes (Leclerc et al., 1994).

1.11 Leguminosas

Las leguminosas ocupan un lugar muy importante en la nutrición humana ya que en muchas regiones del mundo son la única fuente de proteína en la dieta, debido a su bajo costo comparado con el costo de la proteína de origen animal, es por esto que las leguminosas se conocen como “la carne de los pobres” (Tharanathan, 2003). Las leguminosas son una fuente rica de proteína, carbohidratos complejos, fibra dietética, minerales (calcio, hierro, zinc, cobre y magnesio), vitaminas (ácido fólico y vitamina B) y ácidos grasos poliinsaturados (linoleico, linolenico y oleico) (Berrios, 2006). El contenido de proteína en las leguminosas es del 18 al 25%, la soya es la leguminosa de la cual se ha reportado una mayor cantidad de proteína (35-43%). La proteína de las leguminosas son una buena fuente de aminoácidos esenciales como lisina pero con bajas cantidades de aminoácidos azufrados como metionina, cisteína y

triptófano. Las semillas de leguminosas contienen numerosos compuestos antinutricionales, los cuales pueden ser de naturaleza no proteica o proteica como por ejemplo, inhibidores de hidrolasa y lectina; este tipo de compuestos pueden ser parcial o completamente eliminados mediante diferentes métodos de procesamiento. Generalmente, el proceso de calentamiento incrementa el valor nutritivo de las proteínas de las leguminosas puesto que puede disminuir el efecto antinutricional de las lectinas (Tharanathan, 2003; Duranti, 2006). Se ha incrementado el interés por el consumo de leguminosa debido a que pueden atenuar el efecto de la glucosa en sangre y respuesta insulinémica. La digestibilidad del almidón de las leguminosas es restringida debido a que este se encuentra atrapado por la pared celular, lo que limita su interacción con las enzimas amilolíticas (Englyst y Cummings, 1992). Las leguminosas que más se producen en México son: frijol, garbanzo, haba, soya y lenteja.

1.12 Lenteja

La lenteja se produce principalmente en Asia y en Medio Oriente, Canadá se ha convertido en el principal productor mundial de lenteja mientras que Estados Unidos es el principal exportador de esta leguminosa en el mundo. El cultivo de lenteja en México se realiza principalmente en los estados de Guanajuato, Michoacán y San Luis Potosí, anualmente se producen alrededor de 7 mil toneladas (SAGARPA, 2003). La lenteja se considera como una de las leguminosas que pueden ofrecer beneficios importantes a la salud, puesto que es una fuente valiosa de proteína (23-32%), carbohidratos (60.5-68.2), de los cuales alrededor del 12% corresponden a fibra dietética; además, esta leguminosa contiene minerales, micronutrientes, incluyendo algunos taninos, la actividad de sus lectinas e inhibidores de tripsina es baja y no toxica y estas son desnaturalizadas y con ello se inhibe su acción mediante una cocción adecuada. El interés como alimento funcional nutritivo de las lentejas ha

aumentado por su efecto benéfico en la diabetes y por su habilidad en el desarrollo de la microflora, también se ha encontrado que la lenteja presenta una mayor capacidad antioxidante comparada con el frijol y la soya, por lo que esta leguminosa pudiera considerarse como una fuente de antioxidantes y ser utilizadas como un ingrediente nutracéutico para el desarrollo de alimentos funcionales (Xu et al., 2007).

1.13 Plátano

El plátano (*Musa paradisiaca* L.) se describe botánicamente como una planta herbácea perenne gigante, las distintas especies y variedades de plátano se diferencian por su tamaño, la disposición y dimensiones de las hojas, la forma y tamaño de los frutos, pero principalmente por la conformación del racimo. El plátano se ha convertido en una de las frutas más comercializadas, ocupando el segundo lugar de las exportaciones mundiales después de los cítricos. El plátano es el cuarto cultivo más importante del mundo después del arroz, el trigo y el maíz. Además, de ser considerado un producto básico y de exportación constituye una fuente de empleo e ingresos en numerosos países en desarrollo (Cartay, 1997). Es un fruto climatérico que una vez cortado del árbol inicia el proceso de maduración, cuando esto ocurre, el almidón es hidrolizado a carbohidratos sencillos (Lii et al., 1982). Se consume principalmente maduro con un tiempo corto de vida de anaquel, por lo que de la cosecha de cada año se pierden de 30-50% de este fruto cosechado (FAO, 2003), por lo que es importante buscar alternativas tecnológicas para aprovechar el fruto antes de su maduración, una de ellas es la obtención de fibra (Proterra, 2002).

La composición química de harina de plátano es del 61-76.5% de almidón, 19-23 de amilosa, 2.5-3.3 de proteína, 4-6% de humedad, 0.3-0.8 de lípidos, 2.6-3.5 de cenizas y 6-15.5% de fibra total Da Mota et al. (2000). El plátano como pulpa

se ha utilizado para la elaboración de alimentos infantiles como jugo clarificado y plátanos deshidratados.

Las harinas de plátano se sabe que se han empleado en Costa Rica, Honduras, Brasil y México, para la elaboración de panes, alimentos instantáneos para desayunos, sopas y polvos para bebidas.

1.14 Botanas

Botana es una palabra inglesa que se puede traducir por bocadillo o comida rápida. Son alimentos en porciones pequeñas, individuales, de fácil consumo y manipulación que no requieren preparación previa al consumo y que están destinadas a satisfacer el hambre entre las comidas formales (Costell, 1988). Las botanas son el símbolo del alimento que satisface las demandas de una sociedad en movimiento, asociadas a nuevos hábitos de vida (Estévez, 2001).

El consumo de este tipo de productos está determinado a cualquier hora o situación, sin restricciones de grupos demográficos, culturales, socioeconómicos o etarios. Los jóvenes los consumen de dos a tres veces al día; la motivación se da por las características sensoriales, el pasar el hambre o el disipar el nerviosismo. El consumo promedio en EEUU registra valores anuales de 10 kg/per capita (Estévez, 2001).

La orientación inicial de estos productos fue la satisfacción de los sentidos en horarios entre comidas; por ello, lo único que importaba era que fueran ricos y de buena textura; fueron llamados alimentos chatarra. Sin embargo, se produjo un cambio radical en la última década, tomando una orientación hacia la satisfacción de necesidades nutricionales. Actualmente, existe interés por alimentos saludables que permiten alimentarse y obtener un beneficio

adicional para la salud. Las botanas son alimentos ideales para enriquecer con vegetales, leguminosas y frutas con alto contenido en fibra dietética (Hu et al., 1996; Pacheco et al., 1998).

II.- JUSTIFICACIÓN

Las enfermedades crónico-degenerativas como la obesidad, el cáncer, diabetes, afecciones cardiovasculares, han ido en aumento en los últimos años. Esta situación se ve relacionada con una alimentación mal balanceada, es por ello el interés por tener una dieta adecuada; por lo que se busca desarrollar alimentos que más allá de su valor nutrimental, tengan un efecto fisiológico benéfico en el organismo; que ayuden a mejorar y/o mantener un buen estado de salud y reducir con esto el riesgo de enfermedades. La preocupación del hombre por conseguir suficiente cantidad de alimentos y por que éstos sean cada vez más variados y de mejor calidad, ha conducido a la revaloración de alimentos tradicionalmente consumidos en la dieta como frutas, cereales y leguminosas. En este sentido la lenteja, aunque representa una importante fuente de proteínas y de otros nutrientes tiene un consumo limitado, por lo que es importante buscar alternativas de proceso para incrementar su aceptación. Por otro lado en México debido al déficit en infraestructura para el transporte, almacenamiento y distribución de plátano se pierden grandes cantidades del mismo. Por lo que, tomando en consideración los atributos de la lenteja como son su alto contenido de proteína, índice glucémico bajo y un porcentaje considerable de fracción indigerible y del plátano inmaduro con un contenido del 6-20% de fibra dietética además de una cantidad importante de almidón resistente, además de responder a las necesidades actuales de la población en donde aparecen los productos botana, en el presente trabajo se desarrolló, caracterizó y se determinó el potencial como alimento funcional de un extrudido de harinas de lenteja/plátano inmaduro.

III.- OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Desarrollar un alimento funcional con base en una mezcla de harinas de plátano-lenteja utilizando el método de extrusión.

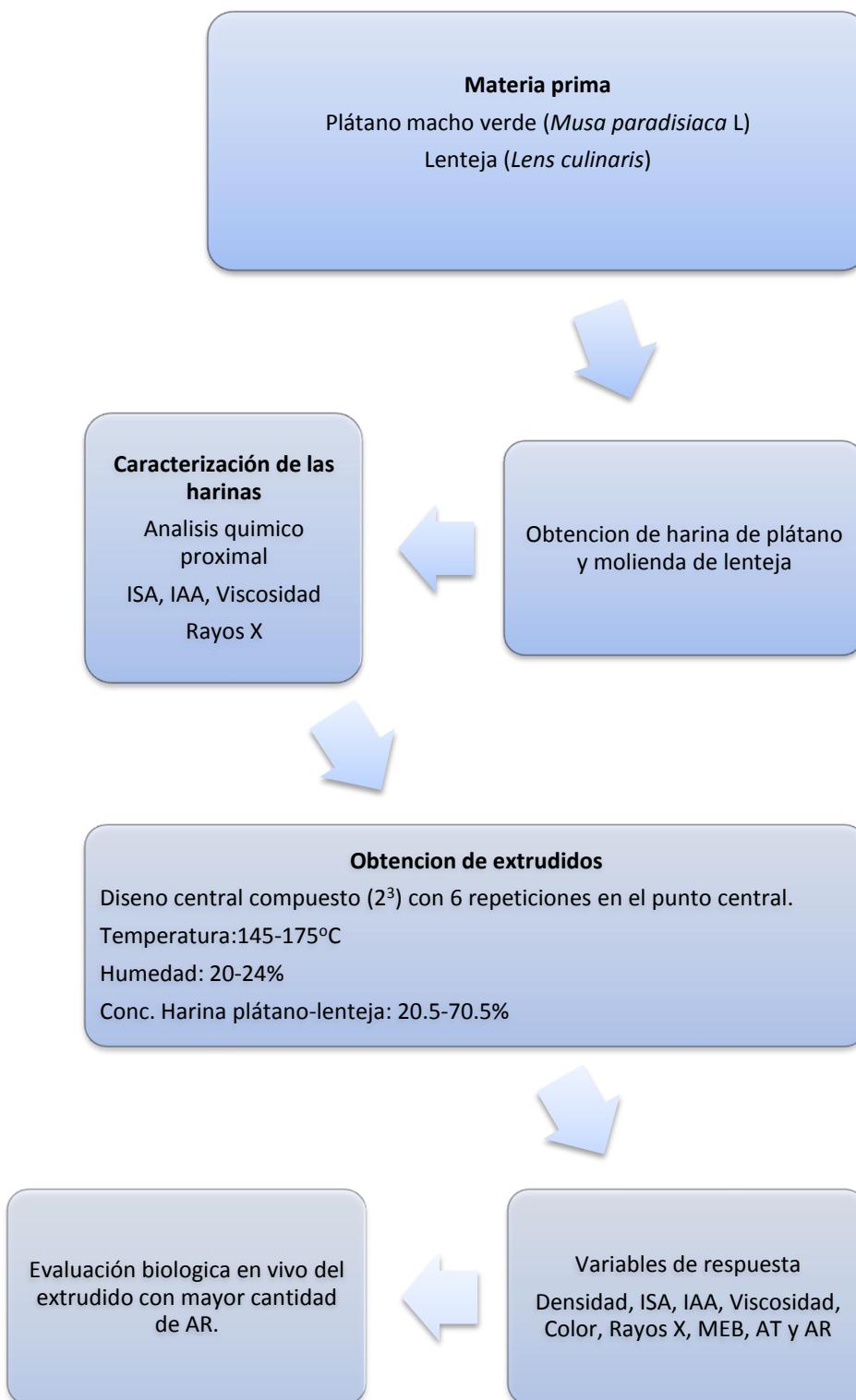
3.2 Objetivos específicos

- Obtención y caracterización química proximal de las harinas de plátano y lenteja.
- Determinar las mejores condiciones de extrusión para la obtención de un alimento funcional con base en una mezcla de harinas de lenteja-plátano.
- Valorar el efecto de la extrusión en las propiedades funcionales y de estructura del producto extrudido de la mezcla de harinas plátano-lenteja.
- Determinar el efecto del producto extrudido con base en harinas de lenteja/plátano sobre los niveles de glucosa y colesterol en ratas alimentadas con una dieta hipercolesterolemica.

IV.- HIPÓTESIS

La mezcla de harinas de plátano y lenteja sometidas a extrusión dará un alimento funcional con alto contenido de fibra con capacidad para bajar los niveles séricos de glucosa y colesterol en ratas, con propiedades sensoriales aceptables.

V. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL



VI.-MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Obtención de las harinas de plátano y lenteja

La materia prima se obtuvo de una bodega comercializadora de plátano en Cuautla, Morelos. Se escogieron plátanos con un grado de madurez 3. Estos fueron plátanos macho (*Musa paradisiaca L*), se pesaron, se lavaron con agua a presión, se pelaron y cortaron en rodajas de aproximadamente 5 mm de espesor. Las rodajas de plátano fueron sumergidas en una solución de ácido cítrico en una concentración de 0.03% con el propósito de evitar obscurecimiento y luego se colocaron en un secador de charolas a 53°C durante 18 h. Despues el plátano seco se trituró y tamizó en una malla número 40 y se envasó en recipientes herméticos.

Para la elaboración de harina de lenteja (*Lens culinaris*), se utilizó lenteja de los Productores Unidos de Huaniqueo, (Huaniqueo, Michoacán; México). Se molvió hasta obtener un polvo fino, el cual se pasó por malla número 40 y se envasó en recipientes herméticos hasta su uso.

6.2 Análisis químico proximal

El análisis químico proximal de las harinas:

- 1) **Humedad**, por medio del método oficial 44-16, de la AACC (2000). Se pesaron 2 g de muestra los cuales se secaron en una estufa a $130 \pm 3^\circ\text{C}$ por 1 h. La humedad se determinó por diferencia de peso.
- 2) **Lípidos**, método oficial 30-25, (AACC, 2000); para la extracción de los lípidos se utilizó éter de petróleo como disolvente, utilizando un sistema de extracción Soxhleth a 3 g de muestra seca.

- 3) **Proteína**, método oficial 46-13, (AACC, 2000). Se determinó indirectamente por la cuantificación del nitrógeno total utilizando método Kjeldahl, con un factor de conversión de 5.85.
- 4) **Cenizas**, método oficial 08-01, (AACC, 2000). Se determinó calculando la pérdida en peso de 3 g de muestra después de incineración a 600°C durante 3 h en mufla.
- 5) **Carbohidratos**, la determinación del contenido de carbohidratos se realizó por diferencia.

6.3 Diseño experimental

Para este estudio se utilizó un diseño central compuesto con seis repeticiones en el punto central, donde las variables independientes fueron humedad (20-24%); temperatura (145 a 175°C) y concentración de harina de lenteja (20.5 - 70.5%) mostrados en el cuadro 1. Estos valores se seleccionaron después de realizar pruebas preliminares de extrusión.

6.4 Preparación de las mezclas de harinas

Las harinas con proporción de 0.39 a 99.6% plátano-lenteja se prepararon en un mezclador (Maren tipo 10, Effort, Dinamarca) adicionando agua con un atomizador para alcanzar un contenido de humedad de 18.64-25.36% necesario para la prueba de extrusión, de acuerdo al diseño experimental. Las muestras se guardaron en bolsas de polietileno y se almacenaron a 4°C hasta su uso.

6.5 Proceso de extrusión

La extrusión de las harinas plátano-lenteja se realizó en un extrusor de tornillo simple (CICATA-IPN, Distrito Federal, México) con una longitud de tornillo de 950 mm (L) y 60 mm de diámetro (D) con una relación longitud a diámetro de 15.8:1. El cilindro del extrusor está dividido en tres zonas independientemente calentadas eléctricamente y enfriadas con aire. El gradiente de temperatura entre las tres zonas fue de 30°C. Con un diámetro de apertura de dado de 12.5 mm. Se utilizaron tres termopares para monitorear la temperatura del cilindro del extrusor y un sensor termopar en la salida del extrusor para medir la temperatura de salida. Los materiales fueron alimentados en el extrusor a 25 Hz controlado con un motor eléctrico (Baldor Electrical Co. Cat GPP7454 MDF, FT Smith, Ark, USA). El procesamiento de las mezclas se llevó a cabo a diferentes humedades, temperaturas y proporción de harina de lenteja y plátano de acuerdo al diseño experimental (cuadro 1). Al final del proceso las muestras extrudidas se almacenaron.

6.6 Caracterización de los extrudidos

Los extrudidos obtenidos se molieron, se tamizaron y se colectaron las harinas que pasaron la malla 60. Se almacenaron en recipientes herméticos hasta su uso.

Cuadro 1.- Diseño experimental

Muestras	Valores reales de las variables		
	Humedad (%)	Temperatura (°C)	Concentración harina de lenteja/harina de plátano (%)
1	20.00	175.00	20.50/79.50
2	22.00	160.00	50.00/50.00
3	22.00	134.77	50.00/50.00
4	22.00	160.00	0.39/99.61
5	18.64	160.00	50.00/50.00
6	20.00	175.00	79.50/20.50
7	22.00	160.00	50.00/50.00
8	24.00	145.00	79.50/20.50
9	22.00	160.00	50.00/50.00
10	22.00	160.00	50.00/50.00
11	25.36	160.00	50.00/50.00
12	22.00	160.00	99.61/0.39
13	22.00	160.00	50.00/50.00
14	22.00	185.23	50.00/50.00
15	20.00	145.00	79.50/20.50
16	24.00	145.00	20.50/79.50
17	24.00	175.00	20.50/79.50
18	22.00	160.00	50.00/50.00
19	24.00	175.00	79.50/20.50
20	20.00	145.00	20.50/70.50

6.7 Análisis funcional de los productos extrudidos

6.7.1 Densidad

La densidad de los productos extrudidos se determinó mediante el método propuesto por Hsieh et al. (1990). Para este estudio se utilizaron semillas de alpiste. Se tomó la media de tres repeticiones de cada tratamiento y se expresó en g/cm³.

6.7.2 Índice de absorción de agua (IAA), índice de solubilidad en agua (ISA).

El índice de absorción de agua (IAA) y el índice de solubilidad en agua (ISA) fueron determinados utilizando el procedimiento de Anderson et al., 1982. Se pesaron 3g de muestra en tubos de ensayo y se hidrataron a 30°C durante 30 min a agitación constante. Posteriormente se centrifugaron (International Centrifuge size 2 model k, International Equipment CO., USA) a 3000 g durante 10 min. Se tomó el peso de los extrudidos húmedos y se tomó una alícuota del sobrenadante, se pusieron a secar en una estufa por 24 h, se tomó el peso de los sólidos secos. Se emplearon las siguientes relaciones para determinar IAA e ISA:

Índice de absorción de agua

$$\text{IAA} = \text{Peso gel} / \text{Peso muestra}$$

Donde:

Peso gel = Peso extrudido húmedo

Peso muestra = 3 g de extrudido

Índice de solubilidad

$$\text{ISA} = (\text{Peso solubles} / \text{Peso muestra}) \times 100$$

Donde:

Peso solubles = Peso de sólidos solubles en caja de aluminio luego de la desecación

Peso muestra = 3 g de extrudido

6.7.3 Color

Para la determinación de color, los extrudidos se molieron y se pasaron por malla número 60 antes de hacer la evaluación de color. Para la cual se utilizó un colorímetro Konica Minolta CR-400 utilizando como blanco el estándar de calibración color blanco. Las mediciones se realizaron manteniendo las harinas en contacto directo con la superficie de lectura de color del colorímetro y los resultados fueron reportados en el sistema L, a* y b* (Minolta, 1994).

6.7.4 Análisis de viscosidad

La viscosidad de las muestras extrudidas se determinó de acuerdo al procedimiento propuesto por San Martín-Martínez et al. (2004) utilizando un Analizador Rápido de Viscosidad (ARV-4D, Newport Scientific, Pty, Warriewood, Australia). La preparación de la muestra se realizó ajustando el peso final de la muestra a 28 g tomando en cuenta que las muestras extrudidas tenían una humedad inicial de 14%. Para estas condiciones se utilizaron 25 mL de agua y 3 g de muestra (correspondiente a 2.58 g de materia seca). Fueron puestos en una canastilla, el análisis de las muestras se realizó en un tiempo total de 16 min. La etapa de calentamiento de 50 a 90°C se llevó a cabo durante

5 min, la etapa de mantenimiento a 90°C fue de 5 min. La suspensión se enfrió durante 6 min hasta que la temperatura de la muestra llegó a 50°C. Se determinó la viscosidad máxima (viscosidad más alta presentada durante la etapa de calentamiento) y la viscosidad de retrogradación (viscosidad al final de la prueba), para obtener estos datos se utilizó el software Termocline para Windows (Newport, Scientific, Narrabean, Australia), los datos fueron registrados en cP.

6.8 Análisis nutricional de los productos extrudidos

6.8.1 Determinación de almidón total

El almidón total se evaluó por el método de Goñi et al. (1997), el cual se fundamenta en cuantificar la glucosa liberada, como resultado de la hidrólisis enzimática con amiloglucosidasa que hidroliza los enlaces glucosídicos α (1-4) y α (1-6) de las cadenas de amilosa y amilopectina. Para ello se pesaron 50 mg de muestra, la cual fué dispersada con 3 mL de agua destilada, 3 mL de KOH 4M y se agitó durante 30 min, después se agregaron 5.5 mL de HCL 2M y se ajustó el pH a 4.75. Se adicionaron 60 mL de una suspensión de amiloglucosidasa, se incubaron en un baño de agua a 60°C durante 45 min, con agitación constante. Se centrifugó a 3000 g durante 15 min y se recolectó el sobrenadante en un matraz aforado de 50 mL. Se recolectó el sobrenadante nuevamente. Se repitió la centrifugación con 10 mL de agua destilada y se tomaron 50 mL del aforado para determinar la cantidad de glucosa liberada por digestión enzimática, mediante el método de glucosa/oxidasa peroxidasa. Se leyeron las absorbancias a 510 nm en un espectrofotómetro Spectronic Genesys 5 (Spectronic Instruments, Inc. Rochester, N. Y. USA).

6.8.2 Determinación de almidón resistente

La metodología descrita por Goñi et al. (1996) se fundamenta en determinar el contenido de almidón indigerible en muestras vegetales tal y como se ingieren. Inicialmente se realizó una hidrólisis proteica con pepsina a pH ácido para emular las condiciones estomacales, seguida de la hidrólisis de almidón digerible con α -amilasa pancreática, una vez eliminado los productos de esta hidrólisis por centrifugación, en el residuo permanece la fracción indigerible. Ésta se dispersó en medio alcalino e hidrolizó en su totalidad con amiloglucosidasa, determinando así, la glucosa liberada. Para esto, se pesaron 100 mg de muestra en un tubo de centrifuga, se agregaron 10 mL de regulador de KCl-HCl pH 1.5 y 200 mL de solución de pepsina (250 mg de enzima en 2.5 mL de regulador de KCl-HCl). Se incubaron en un baño de agua a 40°C durante 60 min con agitación constante, posteriormente se dejó enfriar a temperatura ambiente. Se adicionaron 9 mL de regulador de Trismaleato pH 6.9 y 1 mL de solución de α -amilasa (360 mg de enzima en 9 mL de regulador de Trismaleato). Se incubaron durante 16 h en baño a 37°C con agitación constante. Pasado este tiempo, se centrifugaron las muestras durante 15 min a 3000 g y se descartó el sobrenadante; el residuo se lavó con 10 mL de agua y se descartó nuevamente el sobrenadante. Se adicionaron 3 mL de agua destilada al residuo y 3 mL de KOH 4M (preparado ese mismo día), la mezcla se mantuvo en agitación constante durante 30 min a temperatura ambiente. Se agregaron 5.5 mL de HCl 2 M y 3 mL de regulador de acetato de sodio, se ajustó el pH a 4.75 se adicionaron 80 mL de amiloglucosidasa. Se incubaron por 45 min en un baño de agua a 60°C con agitación constante. Se centrifugaron por 15 min a 3000 g, se recolectó el sobrenadante en un matraz aforado de 50 mL. Se tomaron 50 mL de muestra para determinar la cantidad de glucosa liberada por digestión enzimática, mediante el método de glucosa/oxidasa peroxidasa

leyendo las absorbancias de las muestras a 510 nm en un espectrofotómetro Spectronic Genesys 5 (Spectronic Instruments, Inc. Rochester, N. Y. USA).

6.9 Análisis estructural de los productos extrudidos

6.9.1 Microscopía electrónica de barrido

Se realizaron cortes transversales y de la superficie de los extrudidos, los cuales se colocaron sobre una cinta conductora de carbón de doble adhesión, la cual se fijó previamente en un soporte de aluminio del microscopio electrónico de barrido JEOL (Japan Electronic Optical Limited, JSM-5800LV, Tokio, Japón), y luego se cubrió con una capa de oro de 40 a 50 nm de espesor en un ionizador de metales JEOL. Las muestras se observaron en el microscopio electrónico de barrido a un voltaje de 8 KV y se tomaron fotografías con aumento de 33X, 500X y 1500 X.

6.9.2 Difracción de rayos X

Se utilizaron muestras en polvo de los extrudidos, los perfiles de difracción de rayos X se obtuvieron usando un equipo Siemens D5000 con una línea de radiación de CuK α ($\lambda = 1.518 \text{ \AA}$) con una diferencia de potencial de 30kV y una densidad de corriente de 20 mA. Las muestras se registraron entre 5 y 0 grados (2θ) con un paso angular de 0.05° y un tiempo de conteo, por paso angular, de 15 segundos. El material se colocó en un porta muestras de aluminio de área 900mm² (dimensiones 30 x 30mm). Se realizaron medidas de difracción de rayos X con el fin de evaluar los cambios en la estructura cristalina y el grado de cristalinidad de las muestras extrudidas.

6.10 Dietas para animales de experimentación

Con base en los objetivos de esta investigación se formularon 2 dietas, la dieta 1 incluye en su formulación fécula de maíz, la dieta 2 incorpora el extrudido con mayor contenido de almidón resistente en polvo igualmente como una fuente de fibra, se fijo que dentro de la formulación de las dietas el contenido de fibra fuese de 5% con el propósito de comparar el efecto hipocolesterolémico de cada dieta. La composición de dichas dietas se muestra en la cuadro 2.

Cuadro 2. Composición porcentual de dietas hipercolesterolémica para ratas de experimentación

Componente	Caseína	Extrudido harina de plátano/lenteja
Colesterol	1	1
Vitaminas	1	1
Lípidos*	5	5
Aceite de maíz	5	5
Mantequilla sin sal	10	10
Proteína*	15	15
Caseína	12.86	12.38
Carbohidratos*	65	62.45
Cenizas*	3	3

*aportado por el extrudido

6.10.1 Animales de experimentación

Las ratas Wistar de 4 semanas de edad fueron proporcionadas por el Bioterio del la ENCB del IPN. Se mantuvieron con una dieta convencional durante una semana y se dividieron en dos grupos de 8 por grupo (4 hembras y 4 machos), el peso inicial fue entre 282 y 300 g, registrándose el peso al inicio del experimento.

Las ratas fueron colocadas en jaulas metálicas individuales con piso de reja y se mantuvo una temperatura controlada de 22°C (Mongeau et al., 1990), con humedad relativa de 50-60% y ciclos de 12 h luz 12 h obscuridad, el periodo de provisión de las dietas fue de 21 días. Durante este periodo se llevó el registro semanal del peso de los animales así como del consumo del alimento. Después de la segunda semana se colectaron diariamente las heces. El alimento y el agua se proporcionaron *ad libitum*.

6.10.2 Toma de muestra sanguínea

Al finalizar los 21 días se dejó en ayuno a los animales durante 8 h para la recolección de muestra sanguínea, la cual se obtuvo mediante punción en el seno retrororbital.

6.10.3 Obtención del suero

La muestra se depositó es tubos ependorf de microcentrifuga, se centrifugó a 3500 g durante 15 min en una ultra centrifuga (Beckman Microfuge TM I) el suero fue separado del precipitado por capilaridad con la ayuda de una pipeta Pasteur y se depositó en un tubo ependorf adicional, para su posterior análisis

6.10.4 Sacrificio de los animales

Después de la obtención de la muestra sanguínea los animales fueron sacrificados por dislocación cervical. Una vez muertos los animales, el hígado fue extraído, lavado con agua destilada y pesado en una balanza.

6.10.5 Determinaciones clínicas

Los niveles de colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, triglicéridos y glucosa en suero fueron determinados utilizando un equipo automatizado Selectra II Vita Lab (Wiener Lab). La concentración de colesterol LDL se calculó utilizando la fórmula de Friedewald.

VII.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Composición química proximal de las harinas

En el cuadro 3, se presentan los resultados de la composición química proximal de la harina de plátano y la harina de lenteja y se observa que, La harinas mostraron un contenido de cenizas similar, mientras que el contenido de humedad, lípidos y proteína fue mayor en la harina de lenteja (Cuadro 2). Como se esperaba el mayor contenido de almidón resistente se encontró en la harina de plátano gelatinizado. En la harina de plátano el contenido de proteína 2.44% es ligeramente menor a lo reportado previamente (3.3-3.4%) por Juárez-García et al., 2006 y Rodríguez-Ambriz et al., 2008, el contenido de proteína en la harina de lenteja (24.59%) es similar a lo reportado (22.62%) por Zhao et al., (2005). El contenido de almidón resistente encontrado en la harina de plátano gelatinizado en este estudio (24.6%) fue menor a lo reportado previamente (30.4%) por Rodríguez-Ambriz et al., (2008), lo que pudiera deberse a que el plátano se encontraba en un grado de madurez mayor.

Cuadro 3. Composición química proximal de harina de plátano y harina de lenteja (%)

Componente	Harina de plátano	Harina de lenteja
Humedad	5.77 ± 0.13	9.39 ± 0.09
Lípidos	0.15 ± 0.04	0.97 ± 0.01
Proteína ^b	2.44 ± 0.09	24.59 ± 0.62
Cenizas ^a	2.42 ± 0.09	2.88 ± 0.06
Almidón total	74.9 ± 0.54	39.9 ± 0.52
Almidón resistente	24.6 ± 0.39	4.77 ± 0.11

^aMedia de tres repeticiones ± desviación estándar, base seca.

^bN x 6.25.

7.2 Obtención de los extrudidos con mezclas de harina plátano-lenteja

En la figura 1, se muestra las diferencias visuales de los productos extrudidos que se obtuvieron a partir de las diferentes mezclas. Los tratamientos que resultaron más difíciles de procesar fueron aquellos que presentaban mayor contenido de harina de lenteja, ya que la masa formada en el transporte de la harina por el tornillo se comprimía, de tal manera que la salida del producto resultaba difícil.

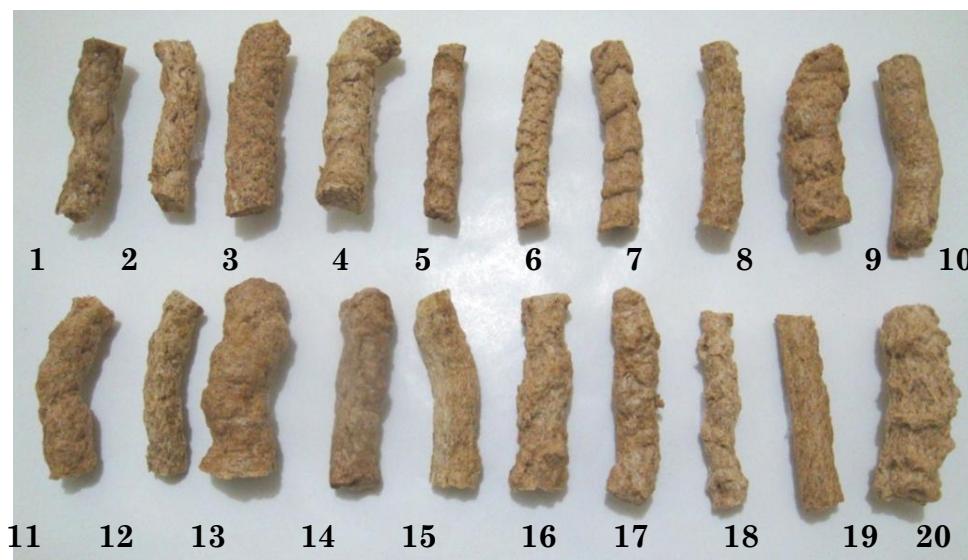


Figura 1.- Productos extrudidos elaborados a base de mezclas de harina de plátano/harina de lenteja bajo diferentes condiciones de humedad y temperatura.

7.3 Densidad

La densidad consiste en medir la expansión de los extrudidos en todas direcciones (Wang et al., 2007), la medida de esta propiedad es importante debido a que se puede relacionar con el costo del producto y el llenado del

empaque final (Harper, 1998). En caso de los cereales para desayuno la densidad se ha relacionado con la habilidad de los extrudidos para flotar o hundirse cuando se agregan a la leche.

El modelo de predicción para la densidad de los extrudidos esta descrito por la ecuación 1, el coeficiente de determinación para este modelo es $R^2= 0.8367$ y $P=0.0021$. Las variables de extrusión que tienen efecto significativo en la densidad son los coeficientes lineales humedad (H), temperatura (T) y concentración (C), los coeficientes cuadráticos de H, T y la interacción entre H y C.

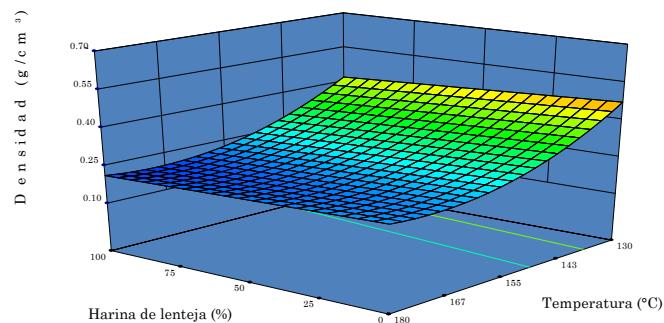
$$\text{Densidad} = 7.65758 - 0.32955H - 0.040424T - 0.021034C - 2.92 \times 10^{-4}HT + 9.53 \times 10^{-4}HC + 8.47 \times 10^{-6}TC + 7.95 \times 10^{-3}H^2 + 1.34 \times 10^{-4}T^2$$

Ecuación 1

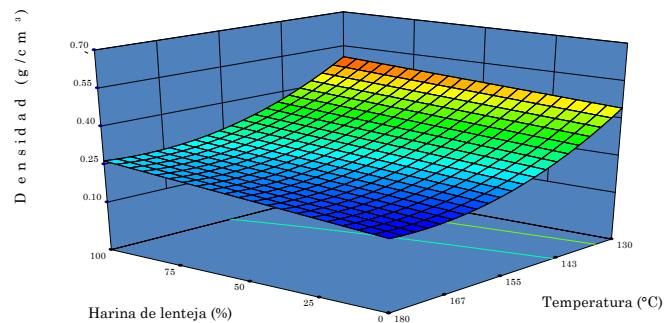
La densidad de los extrudidos fue entre 0.17 y 0.54g/cm³. Las superficies de respuesta obtenidas por la ecuación 1 muestran que los extrudidos con menor densidad fueron aquellos que se obtuvieron con altas concentraciones de harina de plátano procesados a altas temperaturas de barril (Figura 2). Los extrudidos al salir del extrusor pierden humedad lo que hace que su densidad sea menor. Un incremento en la temperatura de barril pudiera disminuir la viscosidad de la mezcla, lo cual coincide con lo reportado por Mercier y Feillet (1975) que indican que la viscosidad de los extrudidos disminuye cuando la temperatura aumenta. El efecto en la disminución de la viscosidad pudiera favorecer el crecimiento de las burbujas durante la extrusión.

Los extrudidos que mostraron una mayor densidad (0.57 g/mL) fueron aquellos que en su formulación presentaban mayor contenido de harina de lenteja procesados con alto contenido de humedad (Figura 2c), la cual posee un alto

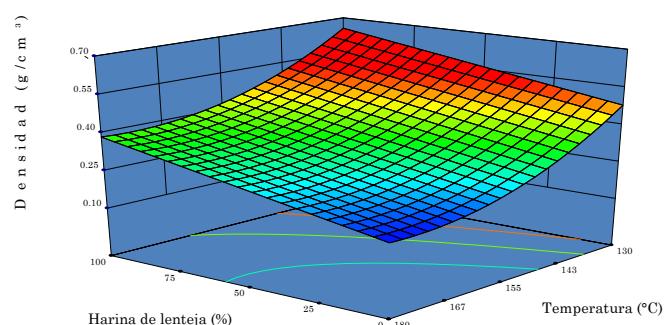
contenido de proteína, lo que podría influenciar en la densidad, debido a que la fricción y el corte durante la extrusión causan un entrecruzamiento entre las proteínas que permite la texturización, provocando que los extrudidos con alto contenido de proteína sean más rígidos y densos (Ruiz-Ruiz et al., 2008).



(a)



(b)



(c)

Figura 2. Efecto de la proporción de harina de lenteja y temperatura de extrusión en la densidad (a) humedad 20%, (b) humedad 22% y (c) humedad 24%.

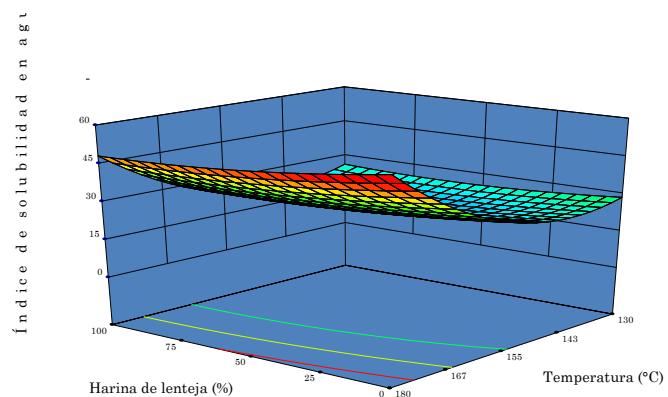
7.4 Índice de solubilidad en agua

El índice de solubilidad en agua (ISA) ha sido utilizado por diversos autores para medir la degradación del almidón (Van den Einde et al., 2003) lo que significa que a bajo ISA existe una degradación menor del almidón, lo que provoca un menor número de moléculas solubles en los extrudidos (Gómez y Aguilera, 1983; Jian y Xiao-Lin, 1994).

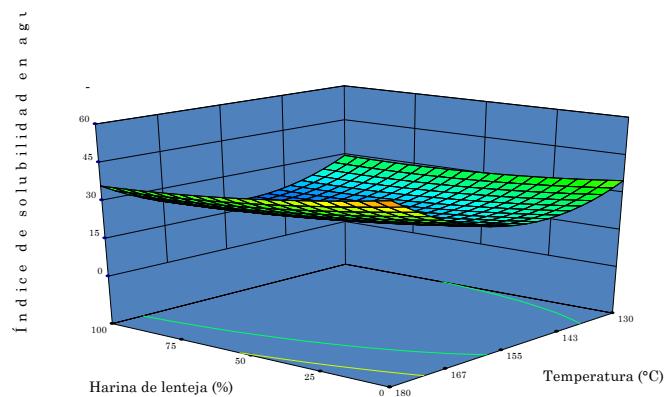
$$\text{ISA} = 204.004 + 2.2916H - 2.9187T + 0.48937C - 0.15475HT - 0.023729HC - 2.23 \times 10^{-3}TC + 0.51047H^2 + 0.021379 T^2 + 2.33 \times 10^{-3}C^2$$

Ecuación 2

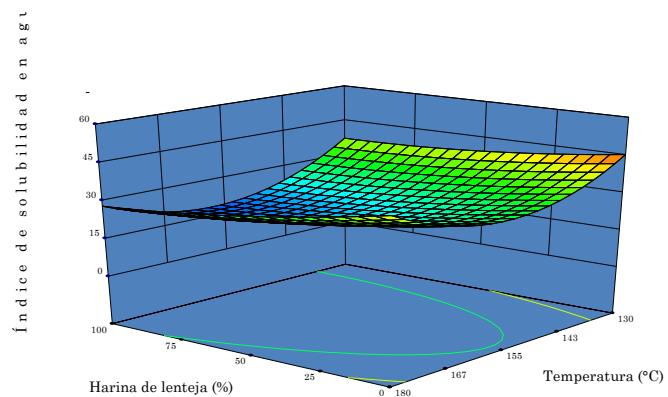
El modelo que predice la respuesta de ISA está dado por la ecuación 2, el coeficiente de determinación para este modelo fue $R^2= 0.8472$ y $P= 0.0044$. Los coeficientes que muestran un efecto significativo en ISA ($P<0.05$) fueron T, C, el efecto cuadrático de T y la interacción entre H y T. Este modelo es adecuado para obtener las superficies de respuesta que se muestran en la figura 3. Los valores de ISA menores se encontraron a 22% de humedad, 150°C de temperatura en las mezclas que contenían 50% de harina de lenteja-50% harina de plátano, mientras que los valores máximos de ISA se obtuvieron en los extrudidos procesados a 20% de humedad, 180°C y altas concentraciones de harina de plátano en las mezclas. Las mezclas con altas concentraciones de lenteja (alta concentración de proteína) presentaron bajos valores de ISA, debido a que las proteínas presentes en las mezclas pierden solubilidad provocado por la desnaturización. Debido a la desnaturización de las proteínas también pueden ocurrir cambios estructurales como que los grupos hidrofilicos como -OH, -NH₂, -COOH, and -SH formen enlaces con el almidón (Ramírez-Ortiz et al., 2008).



(a)



(b)



(c)

Figura 3. Efecto de la proporción de harina de lenteja y temperatura de extrusión en el índice de solubilidad en agua (a) humedad 20%, (b) humedad 22% y (c) humedad 24%.

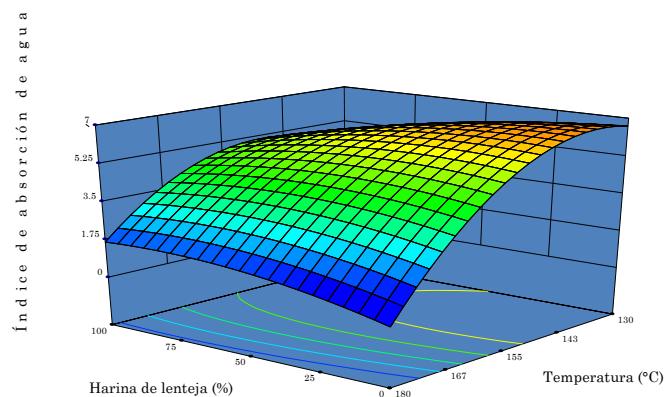
7.5 Índice de absorción en agua

El índice de absorción de agua (IAA) mide la cantidad de agua absorbida por el almidón y las proteínas por lo que puede ser usado como índice de gelatinización (Anderson et al., 1969). La gelatinización del almidón es la conversión del almidón nativo en material digerible mediante la aplicación de agua y calor, que es uno de los efectos importantes de la extrusión sobre el almidón de los alimentos. La ecuación 3 muestra los coeficientes de regresión de segundo orden para IAA este modelo muestra una P=0.0304 y un coeficiente de determinación R²= 7832 y P=0.0084.

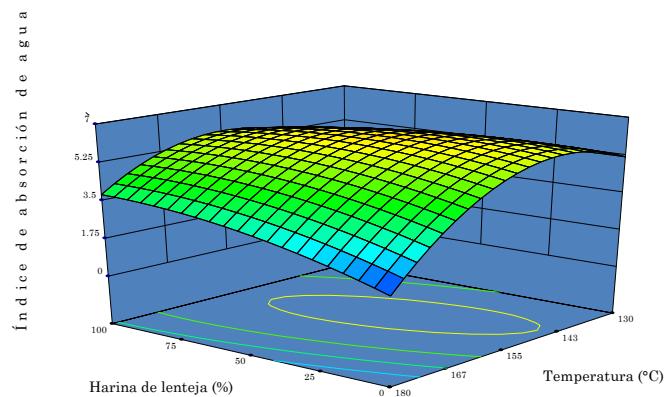
$$\text{IAA} = 35.17179 - 4.41967H + 0.35671T - 0.30534C + 0.027292HT + 7.39 \times 10^{-3}HC + 1.32 \times 10^{-3}TC - 3.40 \times 10^{-3}T^2 - 5.81 \times 10^{-4}C^2$$

Ecuación 3

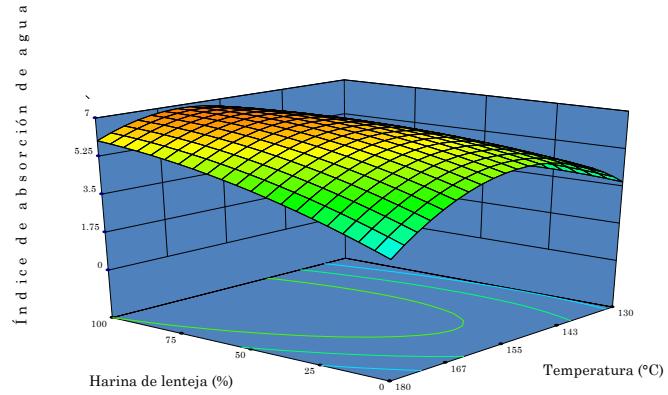
Los coeficientes que tienen efecto significativo ($p<0.05$) en IAA, fueron el término lineal M y T, el efecto cuadrático de T y la interacción entre M y T. Las superficies de respuesta muestran que los valores máximos de IAA, se obtuvieron con valores de humedad y harina de lenteja altos en la mezcla (figura 4c). Efectos similares de humedad en el IAA han sido reportados previamente en extrudidos de arroz con leguminosas (Shingh et al., 2007). Valores de IAA bajos se observaron, a bajo contenido de humedad y alta concentración de harina de lenteja (figura 4a) obteniéndose un extrudido con alto contenido de proteína, considerando que durante la extrusión se provoca la pérdida de la capacidad de solubilidad y precipitación de las proteínas debido a la desnaturización se podría atribuir a este efecto la obtención de valores bajos de IAA.



(a)



(b)



(c)

Figura 4. Efecto de la proporción de harina de lenteja y temperatura de extrusión en el índice de absorción de agua (a) humedad 20%, (b) humedad 22% y (c) humedad 24%.

7.6 Color

El color es un parámetro de calidad importante debido a que es el reflejo de las reacciones químicas y el grado de cocción o degradación que se lleva a cabo durante la cocción en la extrusión. En el cuadro 4 se muestran los valores triestímulo obtenidos de los extrudidos elaborados con harina de lenteja y plátano en ella se puede observar que el valor de luminosidad varía entre 55.24 y 69.72, siendo el extrudido con el valor más alto de luminosidad el elaborado con menor proporción de harina de lenteja en su formulación y baja temperatura de extrusión. En el caso del parámetro a* los valores son positivos de 6.41 a 7.41 que indica que el tono que predomina en los extrudidos es el rojo mientras que el parámetro b* los valores se encuentran de 18.01 a 21.67 lo que indica que la tendencia se encuentra en la gama de amarillo.

$$L = 323.40134 - 22.94265H + 0.24464T - 0.5039C + 0.049938HT - 5.40 \times 10^{-4}HC + 2.69 \times 10^{-3}TC + 0.33452H^2 - 5.06 \times 10^{-3}T^2 + 3.66 \times 10^{-4}C^2$$

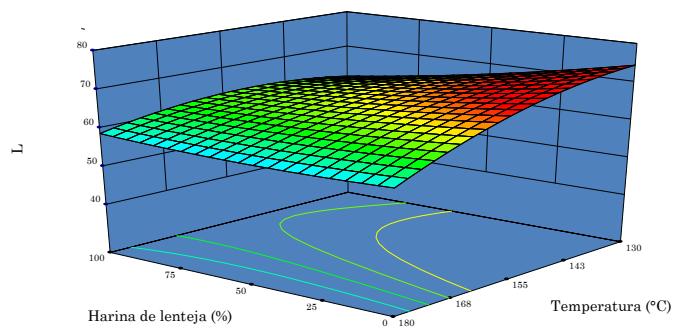
Ecuación 4

L representa la luminosidad de los extrudidos obtenidos con harina de lenteja y plátano. La ecuación 4 describe el modelo matemático al que se ajustan los datos experimentales obtenidos, éste tiene un valor de $R^2= 0.9673$ y $P<0.0001$, la figuras (5^a.5b y 5c) representan las superficies de respuesta construidas con este modelo, en los cuales los altos valores de L representan productos más oscuros, se encontraron en los extrudidos con alta concentración de harina de plátano procesados a baja humedad y baja temperatura (figura 5a). Los extrudidos con alto contenido de harina de plátano presentaron mayor proporción de almidón que durante la dextrinización tiene mayor cantidad de azúcares reductores lo que provoca un incremento en la intensidad de L, por las probables reacciones de Millar.

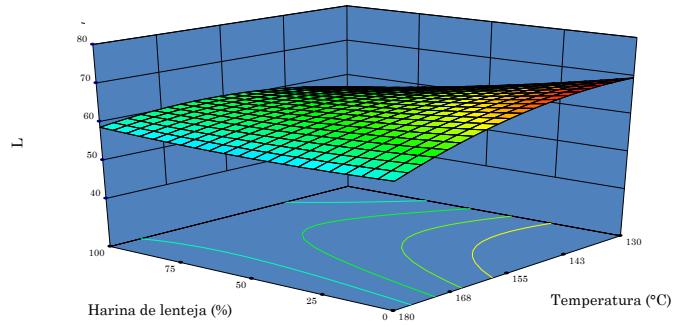
Cuadro 4.- Efecto de las condiciones de extrusión en los parámetros L, a* y b* de los extrudidos.

Condiciones de extrusión					
Humedad %	Temperatura °C	Lenteja/plátano %	L	a*	b*
20.00	175	20.50/79.50	60.38 ± 0.07	6.28 ± 0.02	20.34 ± 0.04
22.00	160	50.00/50.00	62.76 ± 0.44	6.35 ± 0.02	20.47 ± 0.03
22.00	135	50.00/50.00	63.55 ± 0.14	5.18 ± 0.06	20.63 ± 0.02
22.00	160	0.39/99.61	65.38 ± 0.03	5.28 ± 0.03	20.23 ± 0.05
18.64	160	50.00/50.00	67.85 ± 0.15	5.29 ± 0.02	20.30 ± 0.04
20.00	175	79.50/20.50	59.75 ± 0.06	7.12 ± 0.01	21.08 ± 0.05
22.00	160	50.00/50.00	60.31 ± 0.03	6.66 ± 0.01	19.47 ± 0.03
24.00	145	79.500/20.50	60.49 ± 0.41	5.93 ± 0.02	19.66 ± 0.16
22.00	160	50.00/50.00	67.70 ± 0.11	5.10 ± 0.03	18.86 ± 0.05
22.00	160	50.00/50.00	62.28 ± 0.06	6.35 ± 0.03	20.08 ± 0.07
25.36	160	50.00/50.00	64.94 ± 0.08	5.72 ± 0.02	19.98 ± 0.06
22.00	160	99.61/0.39	61.65 ± 0.05	5.28 ± 0.02	20.96 ± 0.03
22.00	160	50.00/50.00	68.04 ± 0.05	4.70 ± 0.01	19.66 ± 0.03
22.00	185	50.00/50.00	55.24 ± 0.16	7.41 ± 0.04	19.76 ± 0.06
20.00	145	79.50/20.50	63.89 ± 0.08	6.33 ± 0.03	21.67 ± 0.04
24.00	145	20.50/79.50	66.02 ± 0.18	5.78 ± 0.07	20.06 ± 0.10
24.00	175	20.50/79.50	63.10 ± 0.06	6.13 ± 0.03	19.80 ± 0.05
22.00	160	50.00/50.00	61.69 ± 0.23	6.49 ± 0.03	16.00 ± 0.05
24.00	175	79.50/20.50	61.91 ± 0.05	6.59 ± 0.06	21.08 ± 0.18
20.00	145	20.50/79.50	69.72 ± 0.17	4.61 ± 0.01	18.01 ± 0.06

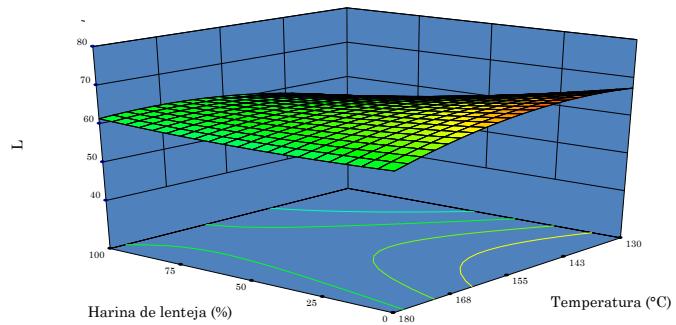
*Promedio de 3 determinaciones ± desviación estándar.



(a)



(b)



(c)

Figura 5. Efecto de la proporción de harina de lenteja y temperatura de extrusión en luminosidad (a) humedad 20%, (b) humedad 22% y (c) humedad 24%.

7.7 Pruebas de viscosidad

En la figura 6a se muestran las curvas de viscosidad obtenidas para la harina de lenteja y harina de plátano sin procesar y en la figura 6b se muestran las curvas de viscosidad obtenidas para las harinas de lenteja y plátano sometidas a diversas condiciones de extrusión. La curva de viscosidad que se obtuvo para la harina de plátano sin extrudir se alcanzó a 3433 cP a 87.8°C, la curva de viscosidad para la harina obtenida de los extrudidos alcanzó su viscosidad máxima desde el inicio del tratamiento debido que el almidón ya se encontraba gelatinizado y al llegar al período de mantenimiento de la temperatura la viscosidad disminuyó y permaneció constante hasta el final del tratamiento.

7.7.1 Viscosidad máxima

Los gránulos de almidón se encuentran formados por dos polímeros, uno esencialmente lineal que es la amilosa y otro ramificado que es la amilopectina. Si los enlaces por puente hidrógeno que mantienen unidos a las moléculas en una red micelar se rompen por acción del calor o debido a un exceso de agua la hidratación de esta red inicia con el proceso irreversible de hinchamiento. La temperatura crítica a la cual este proceso comienza, se conoce como temperatura de gelatinización, existe un intervalo de temperatura en cada tipo de almidón a la cual se presenta este fenómeno, que es más apropiado referir como temperatura de gelatinización. El hinchamiento de los gránulos y la gelatinización de los mismos es acompañado por un incremento en la viscosidad (Hosney, 1980). Los estudios de ARV han sido ampliamente utilizados para caracterizar las propiedades de empastado de los cereales y productos procesados (Bryant et al., 2001; Kadan, Bryant & Pepperman, 2003). La viscosidad determinada en los productos extrudidos mediante ARV refleja los cambios en las propiedades de empastado que es el resultado de los cambios

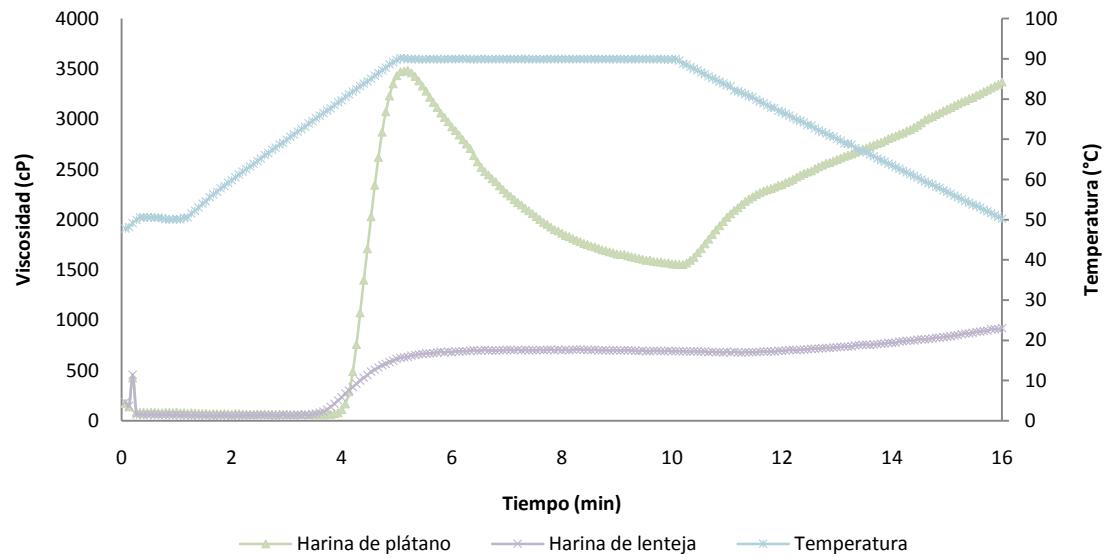
estructurales durante la cocción por lo que da una medida indirecta de la conversión del almidón. El modelo de predicción de viscosidad máxima (VM) se presenta en la ecuación 5 y el coeficiente de determinación para este modelo fue R²= 0.8348 y P= 0.0007 los términos T, C y la interacción de los términos HT y TC tienen efecto significativo (p<0.05) en VM.

$$\begin{aligned} \text{VM} = & 25438.2534 - 1317.69001H - 103.14767T - 69.25836C + 3.85833HT+ \\ & 1.01695HC + 0.25763TC + 15.53964H^2 \end{aligned}$$

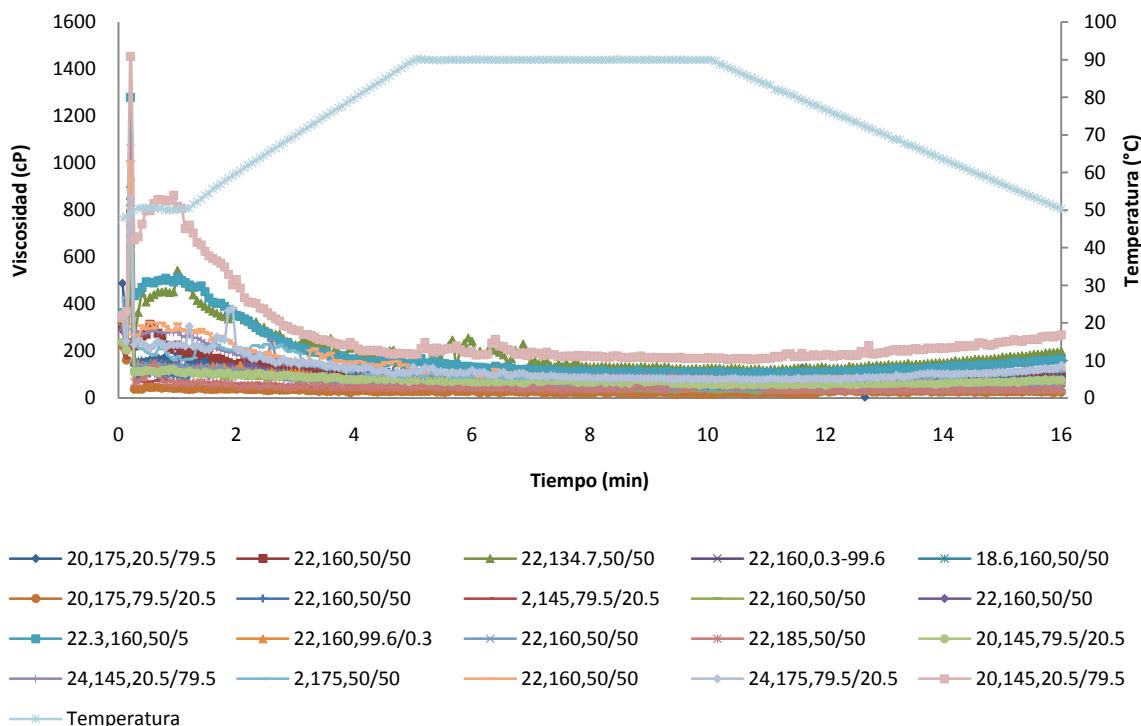
Ecuación 5

Valores altos de viscosidad son asociados con una gran proporción de almidón sin gelatinizar, mientras que los valores bajos de viscosidad podrían reflejar mayor degradación y gelatinización del almidón que se atribuye a la despolimerización y de arreglo molecular afectado por las condiciones de proceso (Hagenimana, Ding & Fang, 2006). Las gráficas de superficie de respuesta obtenidas para VM se muestran en la figura 7. Los valores de viscosidad altos fueron encontrados en los extrudidos elaborados con altas concentraciones de harina de plátano, procesadas a bajo contenido de humedad y baja temperatura, bajo esas condiciones el almidón no se gelatiniza completamente. Los valores de VM bajos fueron encontrados a bajo contenido de humedad y altas temperaturas, a altas temperaturas el extrudido se convierte en una masa plástica y menos viscosa, debido a la acción de los tratamientos mecánicos y térmicos producidos durante la extrusión los gránulos de almidón son degradados y consecuentemente se produce valores de viscosidad bajos. Carvalho, Ascheri & Cal-Vidal (2002), sugieren que altas temperaturas de barril y baja humedad de alimentación provoca un incremento en el esfuerzo de corte durante el proceso de extrusión de botanas de tercera generación lo que resulta en una alta gran degradación del almidón y valores de viscosidad bajos. Los valores bajos en la viscosidad de los productos

extrudidos comparados con las harinas sin extrudir son probablemente a consecuencia de la desnaturalización de las proteínas y la formación de redes entre proteína-almidón lo que produce estructuras con baja capacidad de interacción con el agua y consecuentemente bajos valores de viscosidad. Los resultados de VM de los productos extrudidos son provocados por la modificación en la conformación de las proteínas, muchos de los enlaces covalentes que estabilizan la estructura secundaria son destruidos y nuevos enlaces pueden formarse entre subunidades (Lampart-Szczapa, et al., 2006) permitiendo la formación de complejos entre almidón-lípidos y proteína-almidón, así como la retrogradación de la amilosa (Guha, Zakiuddin & Bhattacharya, 1998).

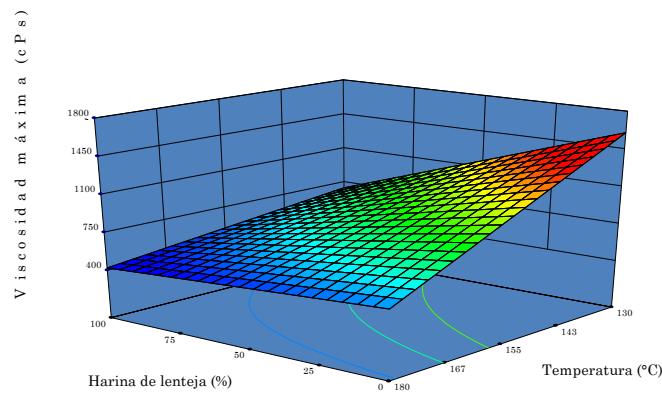


(a)

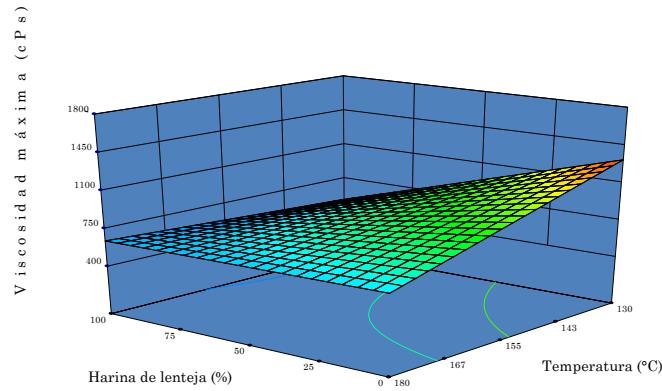


(b)

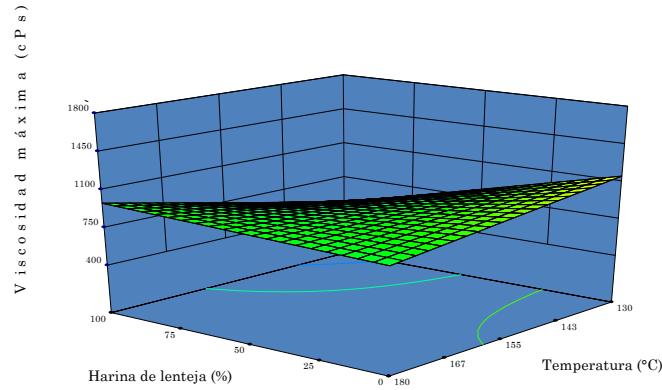
Figura 6.- Curvas de viscosidad de harina de lenteja y harina de platano sin procesar (a) y curvas de viscosidad de las harinas de lenteja y plátano sometidas a diversas condiciones de extrusión (b).



(a)



(b)



(c)

Figura 7. Efecto de la proporción de harina de lenteja y temperatura de extrusión en viscosidad máxima (a) humedad 20%, (b) humedad 22% y (c) humedad 24%.

7.7.2 Viscosidad final

Un calentamiento prolongado de las pastas provoca la desintegración de los gránulos, provocándose un decremento en la viscosidad de la pasta. En este punto la viscosidad de la pasta se controla por dos fenómenos más o menos simultáneos: hinchamiento de los gránulos y debilitamiento de los enlaces entre gránulos y su ruptura física. Si la temperatura de la pasta se desciende subsecuentemente, los elementos presentes en las pastas, comienzan a asociarse o retrogradar, entonces incrementan la viscosidad nuevamente. La viscosidad final (VF) es la medida de la reasociación del almidón, en los productos extrudidos depende las modificaciones que ocurren en la estructura de los gránulos y moléculas, lo que puede dar una indicación indirecta de cuanto almidón resistente pudiera formarse por la retrogradación del almidón. La retrogradación ha sido reportada por tener importancia debido a que los efectos en los cambios texturales que se producen en los alimentos que contienen almidón.

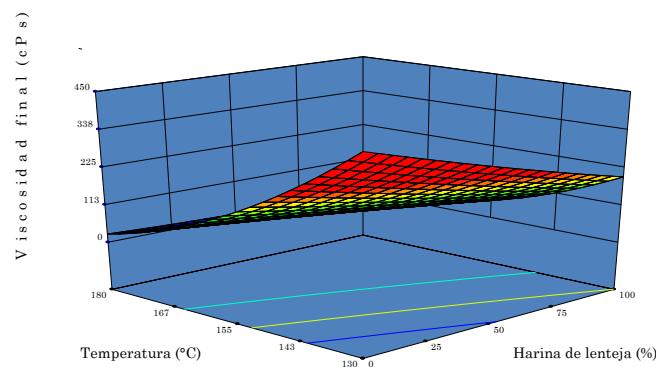
$$\begin{aligned} \text{VF} = & 11152.6003 - 481.97892H - 63.89601T - 21.39787C + 1.375HT + \\ & 0.42373HC + 0.066102TC + 5.5718H^2 + 0.088055T^2 + 7.33 \times 10^{-3}C^2 \end{aligned}$$

Ecuación 6

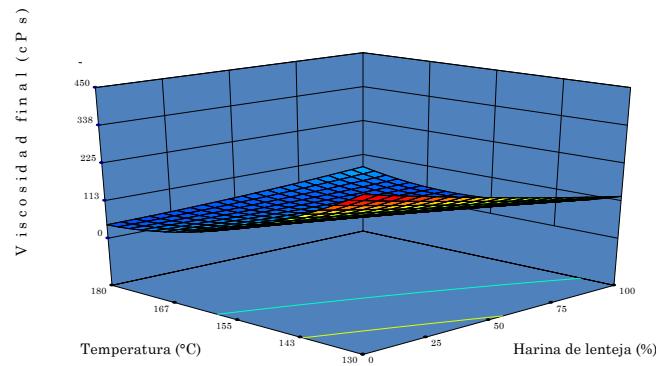
En la ecuación 6 se muestra el modelo cuadrático obtenido de los resultados experimentales de VF los coeficientes de determinación para este modelo fueron $R^2= 0.8397$ y $P=0.0055$ con un efecto significativo ($p<0.05$) de los términos lineales T y C, los términos cuadráticos de H y T, y la interacción de (HT y TC). La figura 8 ilustra las superficies de respuesta obtenidas para VF, el alto grado de reasociación fue encontrado en los productos extrudidos con alta proporción de harina de plátano en las mezclas procesados a bajas temperaturas, esto puede asociarse al incremento en el contenido de almidón

en la mezcla, y el aumento en la viscosidad se debe a la tendencia de reasociación del almidón.

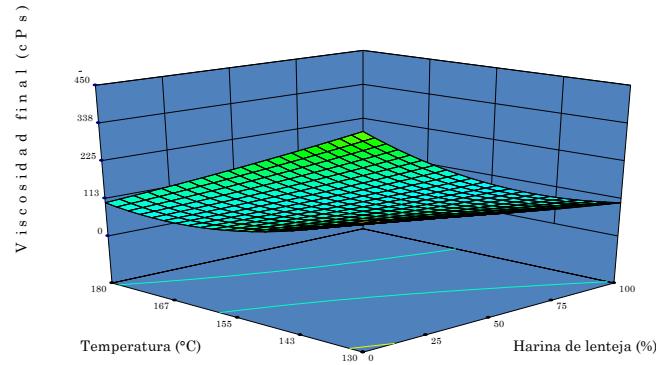
En este trabajo la VF disminuyó cuando la mezcla con alta concentración de harina de lenteja fue procesada a bajo contenido de humedad y alta temperatura, esto pudo deberse a que durante el enfriamiento el almidón y proteína no producen geles.



(a)



(b)



(c)

Figura 8. Efecto de la proporción de harina de lenteja y temperatura de extrusión en viscosidad final (a) humedad 20%, (b) humedad 22% y (c) humedad 24%.

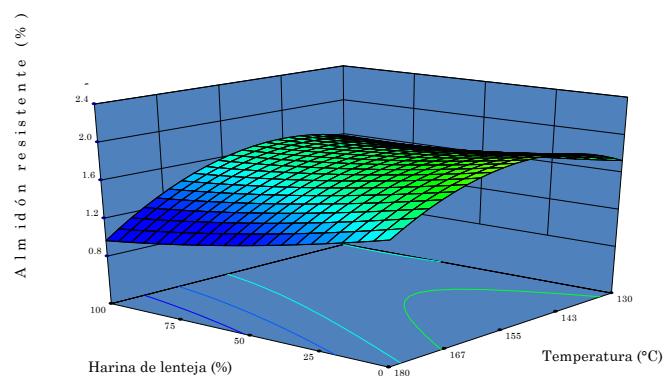
7.8 Almidón total y almidón resistente

El contenido de almidón total en los productos extrudidos mostró un incremento del 34% al 65%, lo que está directamente relacionado con la cantidad de harina usada en las mezclas. La ecuación de regresión para la relación entre el almidón resistente y las variables independientes (concentración de harina de plátano-lenteja, contenido de humedad y temperatura) obtenidos se presentan en la ecuación 7.

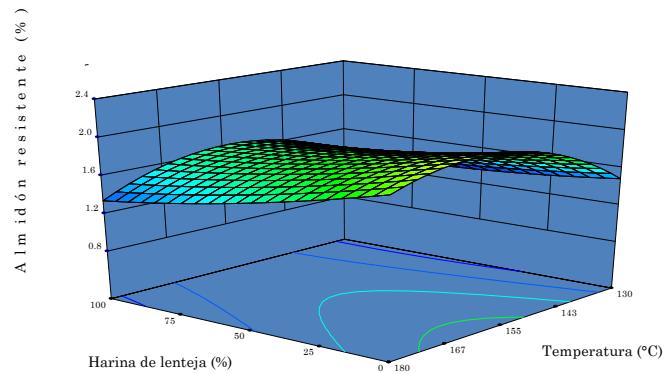
$$AR = +8.03893 - 0.93626H + 0.042542T + 9.72 \times 10^{-3}C + 6.25 \times 10^{-3}HT - 1.41 \times 10^{-4}TC - 5.45 \times 10^{-4}T^2 + 6.23 \times 10^{-5}C^2$$

Ecuación 7

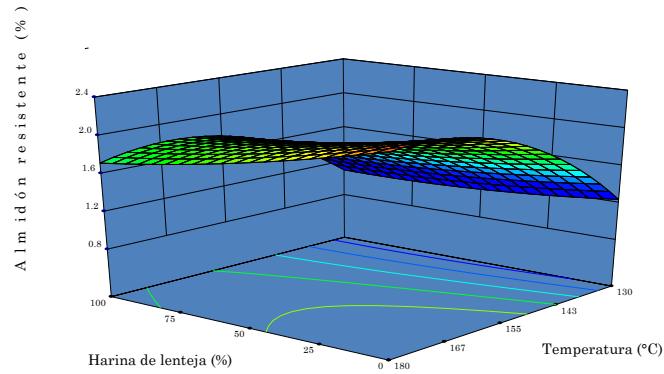
Los coeficientes de determinación (R^2) fue 0.8399, el efecto lineal de humedad, concentración de harina de lenteja así como el efecto cuadrático de temperatura y la interacción entre contenido de humedad y temperatura presentaron una influencia significativa en el contenido de almidón resistente en los extrudidos. El contenido de almidón resistente en los extrudidos fue entre 1.3% y 2.4%, los mayores contenidos de AR se encontraron en extrudidos procesados a 22-24% de humedad, 160-175°C y alta proporción de harina de plátano en la mezcla (figura 9). La reducción en la digestibilidad del almidón debido al incremento de temperatura se atribuye a la reasociación de almidón gelatinizado y la formación de complejos amilosa-lípido y/o proteína-almidón, lo que reduce la susceptibilidad del almidón a la hidrólisis enzimática (Guha et al., 1997).



(a)



(b)



(c)

Figura 9. Efecto de la proporción de harina de lenteja y temperatura de extrusión en el contenido de almidón resistente (a) humedad 20%, (b) humedad 22% y (c) humedad 24%.

7.9 Difracción de rayos X

La difracción de rayos X ha sido utilizada para estudiar los cambios en la estructura cristalina de los productos extrudidos a nivel molecular. La harina de plátano sin procesar estudiada mostró una cristalinidad relativa de 2.45% y un patrón de rayos X tipo C que es una mezcla del patrón de rayos X tipo A y B con reflexiones principales en el ángulo 2θ de 17°, 18° y 23° lo cual coincide con lo reportado previamente por González-Soto et al, 2007. El espectro de difracción para la harina de lenteja, mostró una cristalinidad de 1.30% y picos en el ángulo 2θ de 15°, 17.2° y 23.2°, estos patrones coinciden con el patrón tipo C reportado para las leguminosas (Hoover & Ratnayake, 2002).

Durante el proceso de extrusión la estructura cristalina de las harinas es parcial o totalmente destruidos, dependiendo de las condiciones de extrusión principalmente provocada por la temperatura de barril y la humedad de alimentación en el proceso de extrusión. Estos cambios en la estructura cristalina también están relacionados con la fuente del almidón y otros componentes presentes en las harinas como son las proteínas y fibras (McPherson, Bailey & Jane, 2000).

Debido al proceso de extrusión la cristalinidad original es destruida sin embargo algunos picos de cristalinidad en los extrudidos fueron detectados parcialmente organizados en estructura cristalina tipo B (figura 10) los cuales se conocen por ser muy estables y resistentes a la hidrólisis de las α amilasas. De acuerdo a Chanvrier et al., (2007) los valores de cristalinidad no pueden estar directamente relacionados con el porcentaje de resistencia enzimática del almidón, debido a que existen mecanismos adicionales involucrados en la formación de fracciones resistentes.

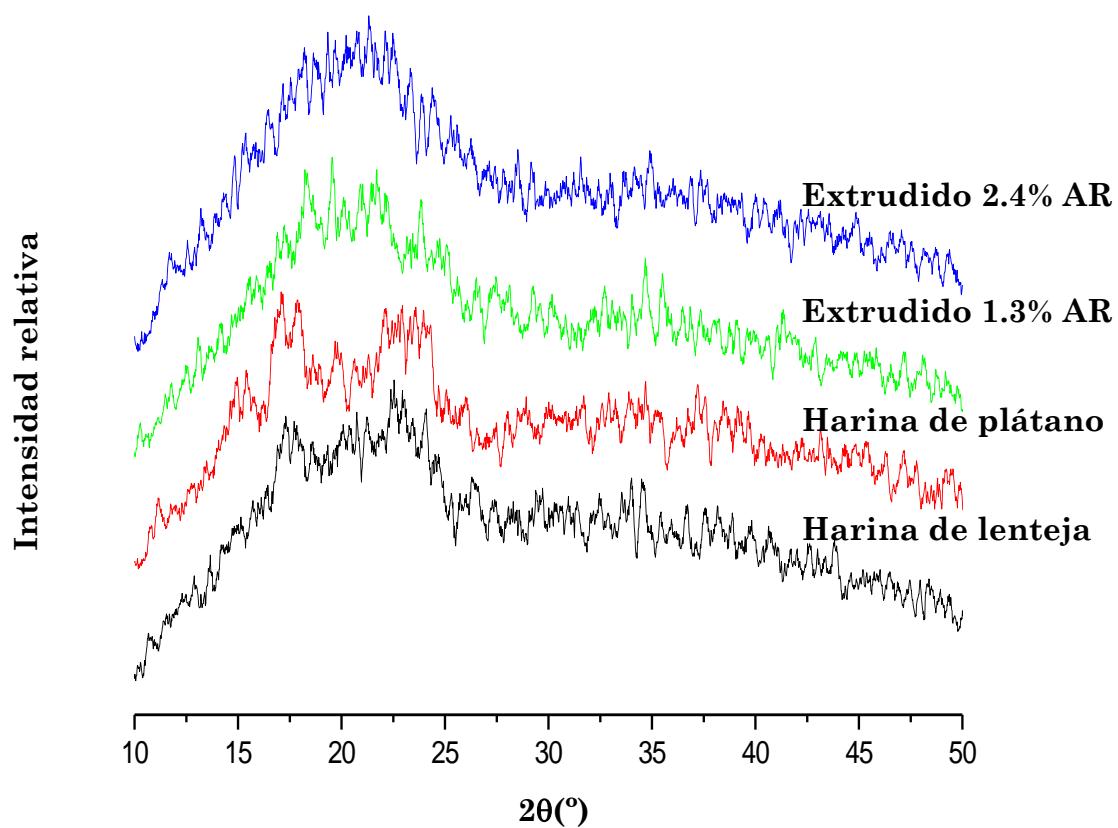


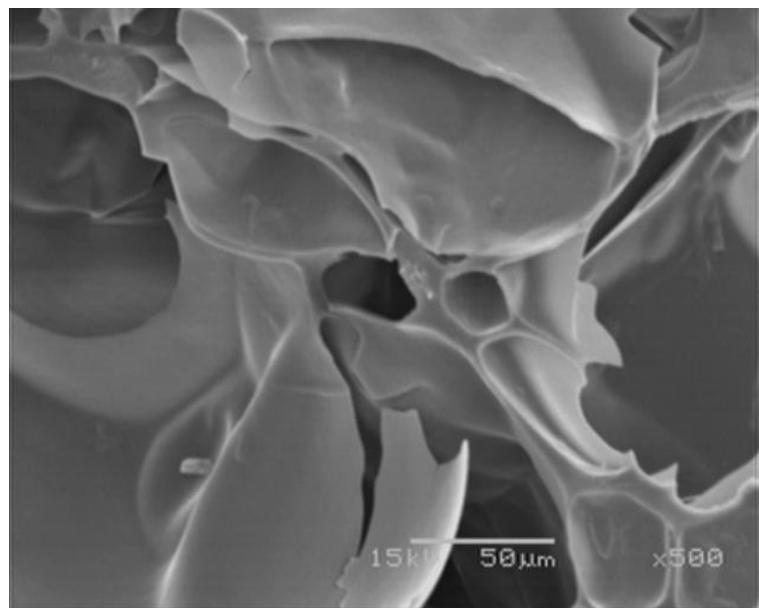
Figura 10. Diffractograma de extrudidos de harina de plátano y lenteja con baja y alta proporción de AR, harina de lenteja sin procesar y harina de plátano sin procesar.

7.10 Microscopía electrónica de barrido

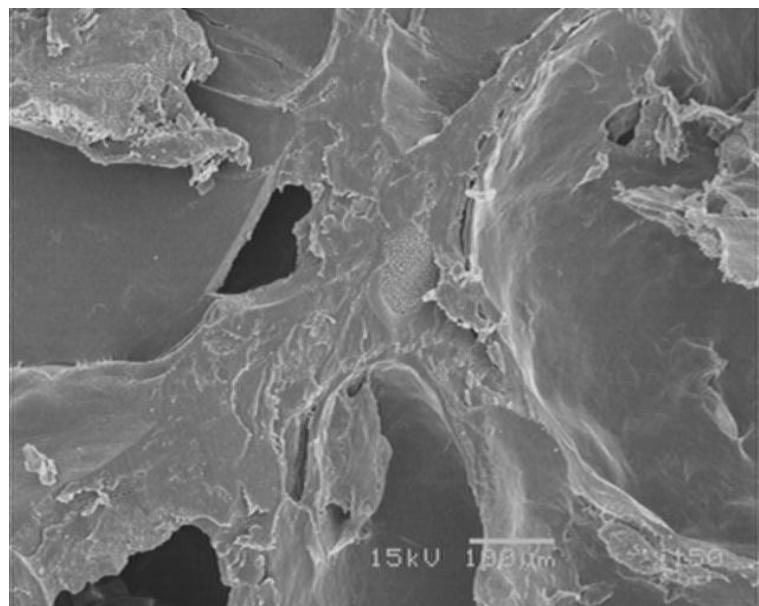
La microscopia electrónica es una herramienta para obtener datos de la microestructura de los materiales, los cuales son necesarios para comprender los cambios que ocurren durante el procesamiento de alimentos. En la figura 11a se muestra que los extrudidos elaborados con mayor proporción de harina de plátano en su formulación presentan una estructura homogénea, también se observa que los extrudidos elaborados bajo las mismas condiciones de extrusión con mayor contenido de harina de lenteja en su formulación (figura 11b) presentan una estructura gruesa con algunos cuerpos proteicos en su interior, provocado por el alto contenido de proteína de este extrudido por el efecto de adición de harina de lenteja.

En la figura 12a muestra los extrudidos con 2.4% de almidón resistente elaborados con 20.5% harina de lenteja y 79.5% harina de plátano, con una humedad de alimentación de 20% y temperatura de extrusión de 145°C se observa que los extrudidos sometidos a una temperatura de extrusión mayor tienen una estructura interna porosa y densa.

Los extrudidos elaborados con 20% de humedad y 175°C de temperatura de barril con variación en las proporciones de 20.5% harina de plátano y 79.5% harina de lenteja, con 1.3% de AR se observan en la figura 12b, en esta micrografía se puede observar que aún existen gránulos de almidón intactos y fraccionados lo cual pudiera estar relacionado con su menor resistencia al ataque enzimático.

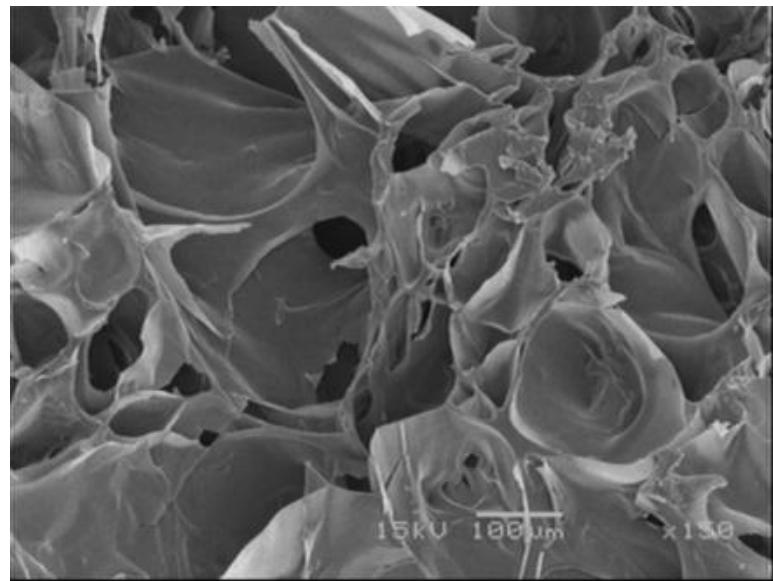


(a)

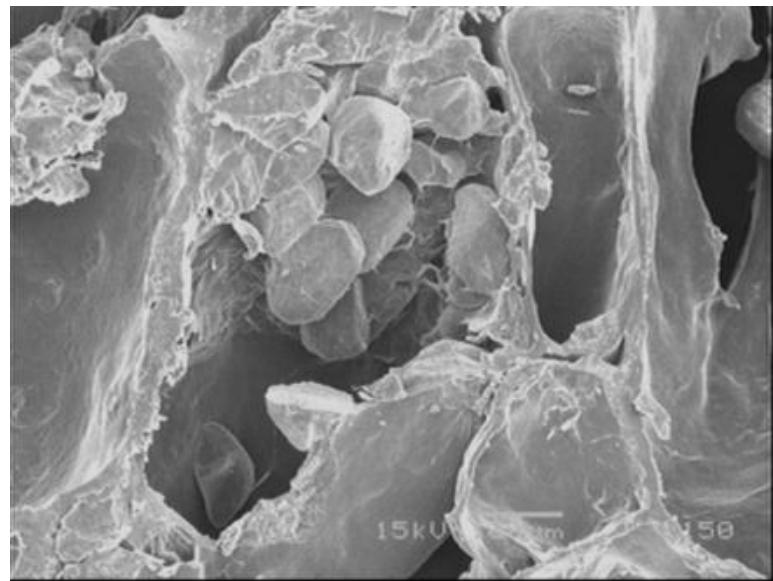


(b)

Figura 11.- (a) Micrografía de extrudido 0.39/99.61 (lenteja/plátano) y (b) extrudido 99.61/0.29 (lenteja/plátano)



(a)



(b)

Figura 12.- (a) Micrografía de extrudido 2.4% AR y (b) extrudido con 1.3% AR.

7.11 Peso de las ratas

El peso inicial de las ratas de ambos grupos no presentó diferencias estadísticamente significativas, lo cual permite descartar interferencias o sesgos en los resultados obtenidos. El efecto de las dietas en la ganancia de peso de las ratas durante el periodo de evaluación se presenta en el cuadro 5, la ganancia de peso de las ratas que consumieron la dieta hipercolesterolémica fue en promedio 32.9g, mientras que el peso de las ratas que se alimentaron con la dieta de extrudido plátano-lenteja perdieron 3.26g en promedio, dicha diferencia es estadísticamente significativa. En ambos casos el consumo de alimento y el aporte energético de las dietas ingeridas son idénticos por lo que la baja ganancia de peso en el grupo de ratas que consumieron la dieta de extrudido de plátano-lenteja puede estar relacionado con la naturaleza y tipo de fibra presente en las dietas debido al contenido fibra soluble e insoluble, impidiendo que las grasas fueran absorbidas por el organismo reflejándose en menor ganancia de peso corporal. En el cuadro 5 se muestra que el consumo del alimento el cual no varió de manera significativa entre ambos grupos también se observa que el peso de las heces fue significativamente mayor en las ratas que consumieron la dieta de extrudido de plátano-lenteja, a pesar de que el consumo de alimento entre ambos grupos fue el mismo, este hecho pudiera estar relacionado con la mayor presencia de AR en la dieta de extrudido de plátano-lenteja, debido a que este AR promueve el crecimiento de la microflora colónica. Este efecto trófico repercute en el volumen y peso de las heces, ya que entre el 40 y 50 % de la masa de éstas son bacterias, esto tiene un efecto en la reducción del tiempo de transito fecal y se evita la acumulación de compuestos citotóxicos como las sales biliares.

Cuadro 5.- Variación de peso y alimento consumido por ratas después de 28 días de alimentación

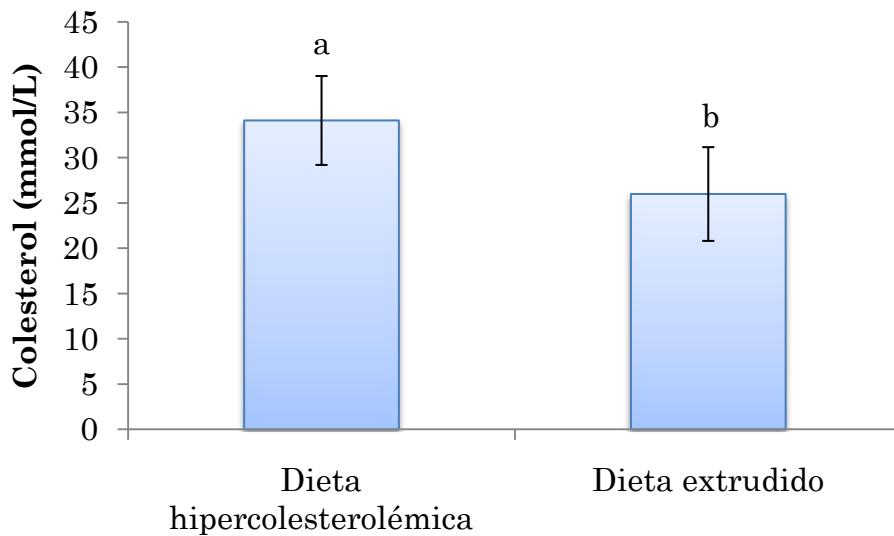
	Dieta hipercolesterolémica	Dieta extrudido
Peso inicial (g, día 0)	239.25 ± 23.74 ^a	230.07 ± 20.11 ^a
Peso final (g, día 28)	272.23 ± 31.82 ^a	226.81 ± 27.75 ^b
Peso ganado (g)	32.98 ± 12.45 ^a	-3.26 ± 10.59 ^b
Comida consumida (g/periodo)	52.33 ± 3.20 ^a	46.83 ± 5.56 ^a
Peso heces (g/periodo)	5.27 ± 0.81 ^a	21.78 ± 6.00 ^b

Media de 8 animales de experimentación ± desviación estándar

* Letras diferentes indican diferencia estadísticamente significativa mediante la prueba de Tukey ($p<0.05$)

7.12 Determinaciones clínicas

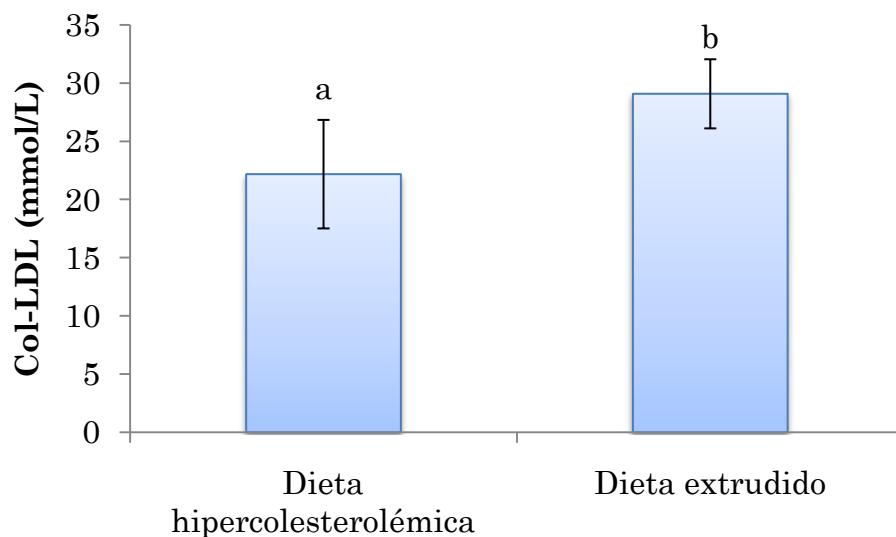
El colesterol en suero disminuyó de manera significativa en el grupo alimentado durante 21 días con la dieta de extrudido plátano-lenteja en 23.81% (Figura 13). Este hecho es atribuible por un lado a la fracción insoluble que induce la derivación del colesterol hepático y sérico hacia la síntesis de sales y ácidos biliares promoviendo su eliminación fecal, y por otro a la fracción soluble, ya que al ser fermentada en el colon da origen a ácidos grasos de cadena corta como el acido propiónico que disminuye la síntesis hepática de colesterol, por inhibición de la actividad de la hidroximetilglutaril coenzima A (Roedinger, 1982; Chen et al., 2006). Olguín (2009) constató una disminución significativa en la concentración de colesterol total sérico de ratas usando cascarilla de soya como fuente de fibra soluble e insoluble.



*Las letras diferentes indican que existió diferencia estadísticamente significativa mediante la prueba de Tukey ($p<0.05$)

Figura 13. Concentración de colesterol total en suero de rata

Se ha reportado que el ácido propiónico y el ácido acético, productos de la fermentación de la fibra, modifican el metabolismo de los lípidos disminuyendo la síntesis de lipoproteínas de baja densidad. La fibra soluble (gomas, mucílagos, pectinas y hemicelulosas) se fermenta en mayor grado que la insoluble (Rubio, 2002). La concentración de lipoproteínas de baja densidad de las ratas alimentadas con la dieta de extrudido de plátano-lenteja presentaron valores 23.72% inferiores en comparación a los niveles del otro grupo de ratas (Figura 14) la diferencia es estadísticamente significativa, este resultado es importante debido a que la reducción de los niveles de lipoproteínas de baja densidad está relacionados a la prevención de las enfermedades como, ateroma y arteriosclerosis (Rubio, 2002).

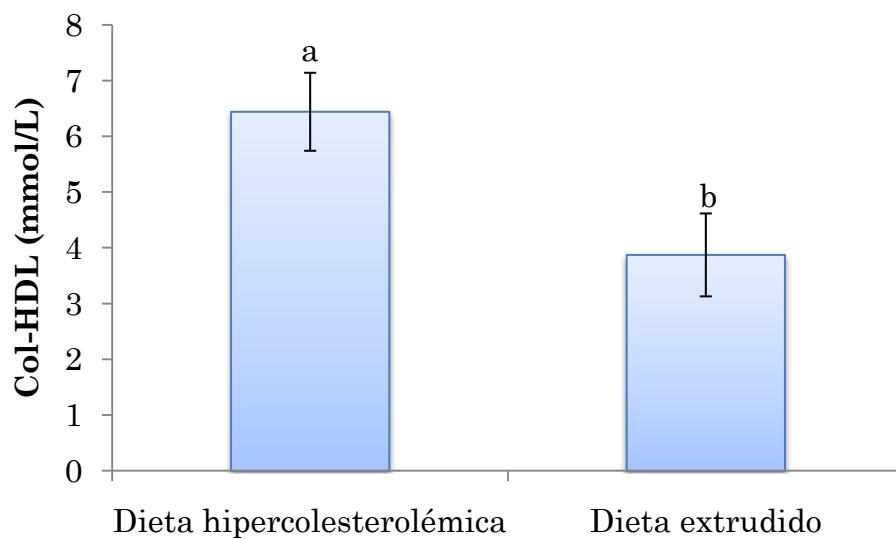


*Las letras diferentes indican que existió diferencia estadísticamente significativa mediante la prueba de Tukey ($p<0.05$)

Figura 14.Concentración de colesterol de baja densidad en suero de rata

La concentración de colesterol de alta densidad se afectó de manera significativa (Figura 15). Este hallazgo reviste una ventaja de consumir el extrudido de plátano-lenteja debido a que el llamado “colesterol bueno” favorece el transporte inverso del colesterol, mecanismo que consiste en la transferencia de colesterol de las células en las que se encuentra en exceso hacia otras que lo requieren y evita la acumulación de la grasa en las paredes de las venas (Álvarez, 2001).

Rosado (1990) reporta que bajo regímenes de alimentación ricos en fibra soluble las lipoproteínas y el colesterol total se ven disminuidos significativamente y las lipoproteínas de alta densidad no experimentan una disminución significativa.

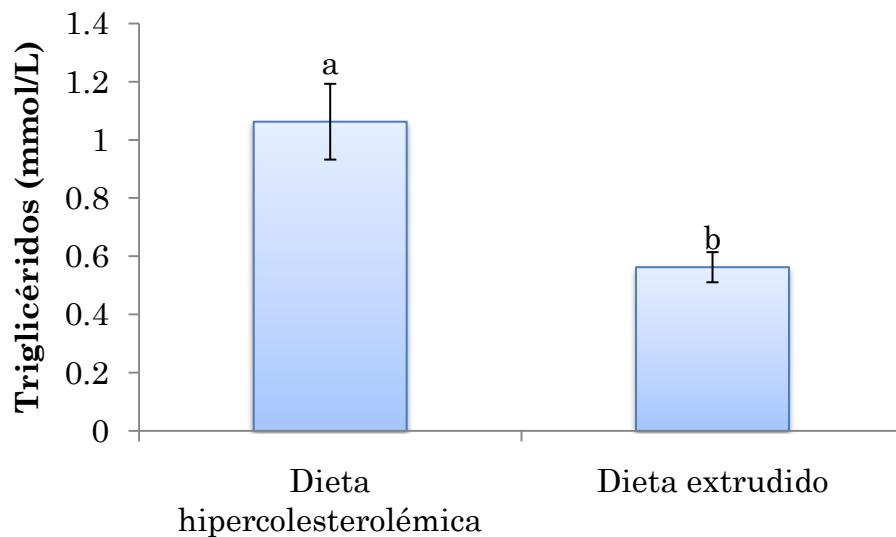


*Las letras diferentes indican que existió diferencia estadísticamente significativa mediante la prueba de Tukey ($p<0.05$)

Figura 15. Concentración de colesterol de alta densidad en suero de rata

Los resultados mostrados en la Figura 16 muestran que las ratas alimentadas con dieta de extrudido de plátano-lenteja disminuyó significativamente en 47.05% la concentración de triglicéridos, en comparación con el grupo de ratas alimentadas con la dieta. Es importante mencionar que la concentración de triglicéridos fue la que más disminuyó dentro de las determinaciones bioquímicas realizadas. Este comportamiento puede deberse al mayor contenido de fibra soluble en la dieta de extrudido de lenteja ya que se ha observado en estudios previos que existe un efecto sinérgico entre la combinación de la fibra soluble y la insoluble sobre los niveles de lípidos. Existe evidencia de que algunos tipos de fibra (celulosa, xilanos, pectinas, goma guar, etc.) inhiben la actividad de la lipasa pancreática, secuestrando la enzima por absorción, reduciendo el pH en el duodeno y/o disminuyendo la emulsión de los lípidos por medio de la viscosidad de la fibra.

Por otro lado, un estudio señala que el AR₂ disminuye la concentración de triglicéridos hepáticos (-50%) y séricos (-20%) en ratas, lo que va acompañado de contenidos inferiores de colesterol en suero y en lipoproteínas ricas en triglicéridos (López y col., 2000).

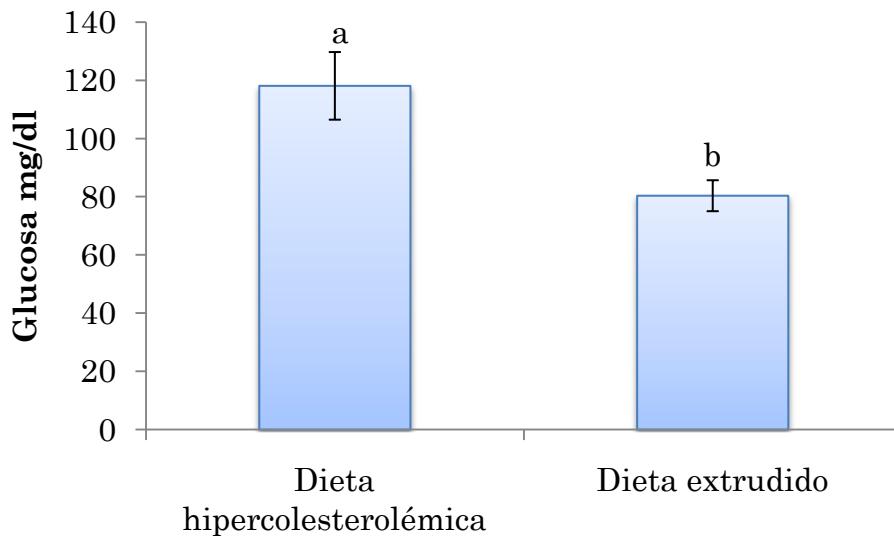


*Las letras diferentes indican que existió diferencia estadísticamente significativa mediante la prueba de Tukey ($p<0.05$)

Figura 16. Concentración de triglicéridos en suero de ratas

La concentración de glucosa determinada en el grupo de ratas alimentadas durante 21 días con la dieta a base de extrudido de plátano-lenteja fue 31.95% menor al valor obtenido con el grupo de ratas alimentadas con la dieta hipercolesterolemica (Figura 17) lo cual pudiera estar relacionado con la baja cantidad de glucosa liberada, después de ingerir alimentos que contienen AR, como consecuencia de la mala absorción del almidón en el intestino delgado, lo cual, representa un menor aporte energético para el metabolismo del organismo. Una cantidad de energía se podría obtener mediante la fermentación del AR en el intestino grueso, ya que esto produce ácidos grasos de cadena corta (AGCC), gases (CH_4 , H_2 , CO_2), y calor. Por otro lado, a mayor

contenido de AR en un alimento su almidón disponible presente es digerido a una velocidad lenta, lo que favorece una respuesta glucémica baja. Liljerberg et al., (1992) observaron diferencias en el índice glicémico de pan adicionado en su formulación con 1% de AR. Solo algunos alimentos, como las leguminosas y las pastas, con bajo índice glicémico presentan un alto contenido de AR.

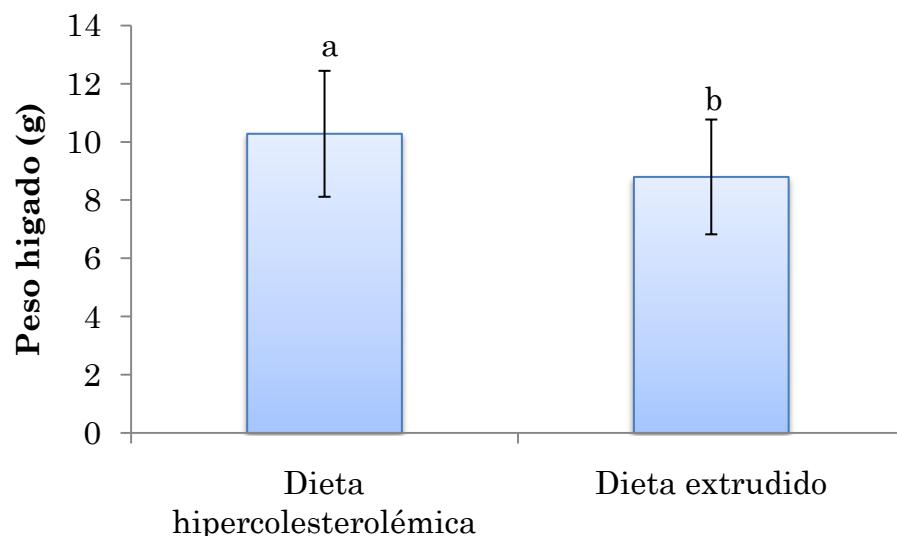


*Las letras diferentes indican que existió diferencia estadísticamente significativa mediante la prueba de Tukey ($p<0.05$)

Figura 17. Concentración de glucosa en suero de ratas

El hígado es un órgano metabólicamente activo por lo que su masa puede estar relacionada con su funcionamiento o estado fisiológico, en algunos trabajos se ha encontrado que el tamaño y peso de éste puede estar influenciado por la presencia de colesterol y tipo de proteína con la cual se alimente el individuo, Kahlon et al., (1992) reportaron un incremento del el peso relativo del hígado en animales alimentándolos con 0.3% de colesterol y 10% de fibra insoluble, en comparación con aquellos que recibieron dieta sin colesterol, con la misma cantidad de fibra presente en la dieta.

En la Figura 18 se muestra que el grupo de animales de experimentación alimentados con la dieta hipercolesterolemica resultó con un peso promedio de hígado mayor al del grupo alimentado con la dieta que incluye extrudido de plátano-lenteja ($p<0.05$).



*Las letras diferentes indican que existió diferencia estadísticamente significativa mediante la prueba de Tukey ($p<0.05$)

Figura 18. Peso relativo de los hígados

VIII.- CONCLUSIONES

- El análisis de la composición química proximal indicaron que la harina de plátano presentó una buena proporción de AR, mientras que la harina de lenteja es rica en proteína, por lo cual la combinación de ambas harinas constituyen una buena opción para el desarrollo de alimentos saludables.
- Las variables independientes que mostraron el mayor efecto en la densidad de los productos extrudidos elaborados a base de harinas de plátano y lenteja, fueron la concentración de harinas, así como la temperatura y humedad de extrusión de las mezclas.
- En el producto extrudido el ISA se vio afectado principalmente por la concentración de harina y la temperatura utilizada en el proceso de extrusión. Así mismo durante la extrusión la temperatura de barril fue el factor que mostró mayor influencia en el IAA de los productos obtenidos.
- El contenido de AR en los extrudidos se vio afectado por las concentraciones de harina, humedad y temperatura utilizadas en la extrusión, el producto extrudido que contenía 2.4% de almidón resistente disminuyo los niveles de colesterol total, triglicéridos y glucosa en sangre de animales de experimentación alimentados con una dieta hipercolesterolemica.
- Los resultados generados de esta investigación permiten proponer el consumo de productos extrudidos de harinas de plátano/lenteja como aporte de un alimento funcional.

IX. BIBLIOGRAFÍA

Adecina, A.A., Sawbhagya, C.M., Bhattacharya. S. & Zakinddin. (1998). American Journal of Food Science and Technology, 35(1):40-43.

Adsule, R.N., Kadam, S.S. & Leung, H.K. (1989). Lentil. In Salunkhe, D. K. & Kadam, S.S. (Eds.), Handbook of world food legumes: Nutritional chemistry, processing technology, and utilization, Vol. 11 (pp. 131). Boca Raton, FL: CRC Press.

Ali, Y., Hanna, M.A. & Chinnaswamy, R. (1996). Expansion characteristics of extruded corn grits. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie, 29(8):702-707.

Alonso, R., Aguirre, A. & Marzo, F. (2000). Effect of extrusion and traditional processing methods on antinutrients and in vitro digestibility of protein and starch in faba and kidney beans. Food Chemistry, 68:159-165.

Álvarez D.G. (2001). Efecto de la ingesta de amaranto germinado sobre los niveles de lípidos en suero de rata y ratón. Tesis de Maestría. ENCB- IPN, Mex. pp 50-70.

American Association of Cereal Chemists AACC. (2000). Approved methods. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, Minesota, USA.

American Association of Cereal Chemists AACC. (2001). The definition of dietary fiber. Report of the dietary fiber definition committee to the board of directors of the American Association of Cereal Chemists. Cereal Foods World. 46:112-126.

Anderson, R.A., Conway, H.F., Pfeifer, V.F. & Griffin, E.L. (1969). Gelatinization of corn grits by roll and extrusion cooking. Cereal Science Today, 14:4-12.

Anderson, R.A. (1982). Water absorption and solubility and amylograph characteristics of roll-cooked small grain products. Cereal Chemistry, 59:265-269.

Anónimo. (1989). Dietary Fibre. A scientific status summary by IFT's expert panel on food safety and nutrition. Food Technology, 43:133-139.

Arai, S. (1996). Studies on functional foods in Japan - state-of-the-art. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, 60(1):9-15.

Asp, N.G. (1992). Resistant starch. Proceeding from the second plenary meeting of EURESTA. European Journal of Clinical Nutrition, 46 (Suppl. 2) SI.

Asp, N.G. & Björck, I. (1992). Resistant starch. Trends in Food Science Technology, 3:111-114.

Bello- Pérez, L.A. & Paredes-López, O. (1999). El almidón lo comemos, pero no lo conocemos. Conversa, 29-33.

Berg, A., Konig, D., Deibert, P., Grathwoht, D., Berg, A., Baumstark M.V. & Franz I.W. (2003). Effect of an oat bran enriched diet on the atherogenic lipid profile in patients with an increase coronary heart disease risk. Annals of Nutrition and Metabolism, 47:306-311.

Berrios, J. De J. (2006). Extrusion cooking of legumes: Dry bean flours. In Heldman, D.R. (Ed.), Encyclopedia of agricultural, food, and biological engineering (pp. 1-8). London, England: Taylor & Francis Group.

Bhandari, B., D'Arcy, B. & Young, G. (2001). Flavour retention during high temperature short time extrusion cooking process: a review. International Journal of Food Science and Technology, 36:453-461.

Bhattacharya, M. & Hanna, M.A. (1987). Influence of process and product variables on extrusion energy and pressure requirements. Journal of Food Engineering, 6(2):153-163.

Björck, I. & Asp N.G. (1989). Balance experiments with nebacin-treated rats. In: Methodological Aspects of In Vivo Methods for Measurement of Starch Digestibility. Ed. European FLAIR-Concerted Action on Resistant Starch (EURESTA), Copenhagen, 35-39.

Björck, I.M., Grandfelt, J., Lijeber, H., Tovar, J. & Asp, N. G. (1994). Food properties affecting the digestion and absorption of carbohydrates. American Journal of Clinical Nutrition, 59: 699S-705S.

Bravo, L., Siddhuraju, P. & Saura-Calixto, F. (1998). Effect of various processing methods on the vitro starch digestibility and resistant starch of Agriculture and Food Chemistry, 46: 4667-4674.

Bryant, R.J., Kadan, R.S., Champaagne, E.T., Vinyard, B.T. & Boykin, D. (2001). Functional and digestive characteristics of extruded rice flour. Cereal Chemistry, 78(2):131-7.

Camire, M.E. & Krumhar, K. (1990). Chemical and nutritional changes in food during extrusion. *Food Science and Nutrition*, 29: 35-57.

Cardoso-Santiago, R.A., Moreira-Aráujo, R.S.R., Pinto e Silva, M.E.M. & Areás, J.A.G. (2001). The potential of extruded chickpea, corn and bovine lung for malnutrition programs. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2:201-203.

Cartay, R. (1997). El Mercado mundial del plátano. *Revista de la Facultad de Agronomía*. (LUZ). 14: 3-20.

Carvalho, R.V., Ascheri, J.L.R. & Cal-Vidal, J. (2002). Efeito dos parâmetros de extrusão nas propriedades físicas de pellets (3G) de misturas de farinhas de trigo, arroz e banana. *Ciência e Agrotecnologia*, 26:1006-1018.

Castells, M., Marin, S., Sanchis, V. & Ramos, A.J. (2005). Fate of mycotoxins in cereals during extrusion cooking: a review. *Food Additives and Contamination*, 22:150-157.

Chanvrier, H., Uthayakumaran, S., Appelqvist, I.A.M., Gidley, M.J., Gilbert, E.P. & López-Rubio, A. (2007). Influence of storage conditions on the structure, thermal behavior, and formation of enzyme-resistant starch in extruded starches. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55:9883-9890.

Chen, J., He, J., Wildman P., Reynolds, K. & Streifter, W. (2006).A randomized controlled trial of dietary fiber intake on serum lipids. *European Clinical Nutrition*, 60:62-68.

Córdova-Villalobos, J.A., Barriguete-Meléndez, J.A., Lara-Esqueda, A., Barquera, S., Rosas-Peralta, M., Hernández-Ávila, M., De León, M.E. & Aguilar Salinas, C.A. (2008). Las enfermedades crónicas no transmisibles en México: Sinopsis epidemiológica y prevención integral. *Salud Pública de México*, 50(5):419-427.

Costell, E. (1988). Expectativas del consumidor desde el punto de vista sensorial. *Alimentos*, 13(1):63-67.

Cummings, J.H. & MacFarlane, G.T. (1991). The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon. *Journal of Applied Bacteriology*, 70:443-459.

Da Mota, R.V., Lajolo, F.M., Ciacco, C. & Cordenisi, B.R. (2000). Composition and functional properties of banana flour from different varieties. *Starch/Starke*, 52:63-68.

Davidson, V.J., Paton, D., Diosay, L.L., & Rubin, L.T. (1984). A model for mechanical degradation of wheat starch in a single-screw extruder. *Journal of Food Science*, 49:1154-1157.

Della Valle, G., Colonna, P. & Patria, A. (1996). Influence of amylose content on the viscous behavior of low hydrated molten starches. *Journal of Rheology*, 40(3):347-362.

Duranti, M. (2006). Grain legume proteins and nutraceutical properties. *Fitoterapia*, 77(2):67-82.

Englyst, H.N., Kingman, S.M. & Cummings, J.H. (1992). Classification and measurement of nutritionally important resistant starch fractions. European Journal of Clinical Nutrition, 46(Suppl. 2):S33-S50.

Estévez, C. (2001). Situación actual y perspectivas de los alimentos “snacks”, p.1- 4. IN: Presente y perspectivas de la industria de “snacks” en Chile. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agronómicas. Publicaciones Misceláneas Agrícolas N°50. 59p.

Faisant, N., Buléon, A., Colonna, P., Molis, C., Lartigue, S., Galmiche, J. P. & Champ, M. (1995). Digestion of raw banana starch in the small intestine of healthy humans: structural features of resistant starch. British Journal of Nutrition, 73: 111-123.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) (2003) FAOSTAT statistics database (actualización mayo 2004). Agriculture. Roma. Italia.

Fellows, P. (2000). Food Processing Technology: Principles and Practice. Pp. 294-305. Cambridge: Woodhead Publication Ltd.

Fernández-Gutiérrez, J.A., San Martín-Martínez, E., Martínez-Bustos, F. & Cruz-Orea, A. (2004). Physicochemical properties of casein-starch interaction obtained by extrusion process. Starch/Stärke, 56:190-198.

Gallant, D.J. (1992). Physical characteristics of starch granules and susceptibility enzymatic degradation. European Journal of Clinical Nutrition. 46(2):S3-S16.

García-Peris, P., Bretón-Lesmes, I., De la Cuerda Compes, C. & Camblor-Álvarez, M. (2002): Metabolismo colónico de la fibra. Nutrición Hospitalaria, 17(Supl. 2):11-16.

Gómez, M.H. & Aguilera, J.M. (1983). Changes in the starch fraction during extrusion cooking of corn. *Journal of Food Science*, 48: 40-43.

González-Soto, R.A., Mora-Escobedo, R, Hernández-Sánchez, H., Sanchez-Rivera, M. & Bello-Pérez, L.A. (2007). The influence of time and storage temperatura on resistant starch. *Food Research International*, 40:304-310.

Goñi, I., García, D. & Saura-Calixto, F. (1997). A starch hydrolysis procedure to estimate glycemic index. *Nutrition Research*, 17:427-437.

Goñi, I., García-Díaz, L., Mañas, E. & Saura-Calixto, F. (1996). Analysis of resistant starch: A method for foods and food products. *Food Chemistry*, 56: 445-449.

Guha M., Ali, S.Z. & Bhattacharya, S. (1997). Twin-screw extrusion of rice flour without a die: Effect of barrel temperature and screw speed on extrusion and extrudate characteristics. *Journal of Food Engineering*, 32:251-267.

Guha, M., Zakiuddin, S. & Bhattacharya, S. (1998). Effect of barrel temperature and screw speed on rapid viscoanalyzer pasting behaviour of rice extrudates. *International Journal of Food Science and Technology*, 33:259-266.

Gujska, E. & Khan, K. (1991). Functional properties of extrudates from high starch fractions of navy and pinto beans and corn meal blended with legume high protein fractions. *Journal of Food Science*. 56:431-435.

Guy, R. (2001). Extrusion cooking, technologies and application. Florida: Woodhead Publication. p. 151.

Hagenimana, A, Ding, X. & Fang, T. (2006). Evaluation of rice flour modified by extrusion cooking. *Journal of Cereal Science*, 43:38-46.

Harper J.M. (1981). Extrusion of foods. Vol. II. Boca Raton, Fla.: CRC Press. p. 41-61.

Harper, J. M. (1989). Food extruders and their applications. In C. Mercier, P. Linko, P & Harper, J. M. (Eds.), *Extrusion cooking* (pp. 1-15). St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists.

He, J., Streiffer, R.H., Muntner, P., Krousel-Wood, M.A. & Whelton, P.K. (2004). Effect of dietary fiber intake on blood pressure: a randomized, double-blind, placebo controlled trial. *Journal Hypertens*, 22:73-80.

Hernández-Díaz, J.R., Quintero-Ramos, A., Barnard, J. & Balandran-Quintana, R.R. (2007). Functional properties of extrudates prepared with blends of wheat flour/pinto bean meal with added wheat bran. *Food Science and Technology International*, 13(4):301-308.

Hoover, R. & Ratnayake, W.S. (2002). Starch characteristics of black bean, chick pea, lentil navy bean and pinto bean cultivars grown in Canada. *Food Chemistry* 78,489-498.

Hosney R.C. (1980). *Principios de Ciencia y Tecnología de Cereales*. Editorial Acritiba, pp. 31-39. España.

Hsieh, F., Peng, I.C., & Huff, H. E. (1990). Effects of salt, sugar and screw speed on processing and product variables of corn meal extruded with a twin-screw extruder. *Journal of Food Science*, 55, 224-227.

Hu, L., Huff, H.E., Heymann, H. & Hsieh, F. (1996). Effects of emulsifier and soy fiber addition on sensory properties of corn meal extrudate. *Journal of Food Quality*, 19:57-77.

Jian, T. & Xiao-Lin, D. (1994). Relationship between functional properties and macromolecular modifications of extruded corn starch. *Cereal Chemistry*, 71:364-368.

Juárez-García, E., Agama-Acevedo, E., Sáyago-Ayerdi, S.G., Rodríguez-Ambriz, S.L. & Bello-Pérez, L.A. (2006). Composition, digestibility and application in breadmaking of banana flour. *Plant Food for Human Nutrition*, 61:131-137.

Kadan, R.S., Bryant, R.J. & Pepperman, A.B. (2003). Functional Properties of Extruded Rice Flours. *Journal of Food Science*, 68(5):1669-1672.

Kahlon S.T., Faye I., Roberts N.S. & Beschart A. (1992). Cholesterol lowering in hamster fed rice bran at various levels, defatted rice bran and rice oil. *Journal of Nutrition*, 513-519.

Lampart-Szczapa, E., Konieczny, P., Nogala-Kałucka, M., Walczak, S., Kossowska, I. & Malinowska, M. (2006). Some functional properties of lupin proteins modified by lactic fermentation and extrusion. *Food Chemistry*, 96:290-296.

Leclere, C.J., Champ, M. & Boillot, J. (1994). Role of viscous guar gums in lowering the glycemic response after a solid meal. American Journal of Clinical Nutrition, 59:914-921.

Lehmann, U., Jacobasch, G. & Schmiedl, D. (2002). Characterization of resistant starch type III from banana (*Musa acuminata*). Journal of Agriculture and Food Science, 50:5236-5240.

Lii, C. Y., Chang, S. M., & Young, Y. L. (1982). Investigation of the physical and chemical properties of banana starches. Journal of Food Science, 47:1493-1497.

Liu, H., Ramsden, L. & Corke, H. (1997). Physical properties and enzymatic digestibility of acetylated ae, wx, and normal corn starch. Carbohydrate Polymers, 34:283-289.

Liu, Y., Hsieh, E., Heymann, H., & Huff, H.E. (2000). Effect of process conditions on the physical and sensory properties of extruded oat-corn puff. Journal of Food Science, 65(7):1253-1259.

Mazza, G. (1998). Functionals food. Biochemical and processing aspects. Technomic Publishing Company. Lancaster (USA).

Mc Neil, M.I. (1984). The contribution of the large intestine to energy supplies in man. American Journal of Clinical Nutrition, 39:338-342.

McPherson, A.E., Bailey, T.B. & Jane, J. (2000). Extrusion of cross-linked hydroxypropylated corn starches. I. Pasting properties. Cereal Chemistry, 77:320-325.

Mercier, C. & Feillet, P. (1975). Modification of carbohydrate components by extrusion-cooking of cereal products. *Cereal Chemistry*, 52:283-297.

Minolta. (1994). Precise color communication: color control from feeling to instrumentation. Publication 9242-4830-92 IFBAJ.

Mongeau, R., Siddqui, I., Emery, J. & Brassard, R. (1990). Effect of dietary fiber concentrated form celery, parnship, and ruta baga on intestinal function, serum cholesterol and blood glucosa response in rats. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 38:195-200

Muir, J.G., Young, G.P. & O'Dea, K. (1994). Resistant starch-implications for health. *Proceedings of the Nutritional Society of Australia*, 18:23-32.

Onwulata, C.I., Isobe, S., Tomasula, P.M. & Cooke, P.H. (2006). Properties of whey protein isolates extruded under acidic and alkaline conditions. *Journal of Dairy Science*, 89:71-81.

Pacheco de Delahaye, E., Vásquez, H., Herrera, I. & Garrido, R. (1998). Snacks de maíz enriquecidos con fibra dietética y carotenoides de la harina de zanahoria (*Ducus carota*) procesados por extrusión. *Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia*, 23:235-248.

Parker, L., Hiramatsu, M. & Yoshikawa, T. (1999). Antioxidant food supplements in human health. Academic Press, London.

Phillips, J., Muir, J.G., Birkett, A., Lu, Z.X., Jones, G.P., O'Dea, K. & Young, G. P. (1995). Effect of resistant starch on fecal bulk and fermentation-dependent events in humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, 62:121-130.

Proterra. (2002). El cultivo del plátano/banano. Ficha técnica. [En línea] Disponible [http://www.abago.com/frutas/frutas tropicales/platano.asp](http://www.abago.com/frutas/frutas_tropicales/platano.asp). 21 de Febrero del 2010.

Qing-Bo, D., Ainsworth, P., Plunkett, A., Tucker, G. & Marson, H. (2006). The effect of extrusion conditions on the functional and physical properties of wheat-based expanded snacks. *Journal of Food Engineering*, 73:142-248.

Ramírez-Ortiz, M.E, San Martín-Martínez, E. & Martínez-Padilla L.P. (2008). Rheological and thermal properties of extruded mixtures of rice starch and isolated soy protein. *Starch/Stärke*, 60:577-587.

Roberfroid M.B. (2000). Concepts and strategy of functional food science: the European perspective. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71(6):1664S-1669S.

Rodríguez-Ambriz, S.L., Islas-Hernández, J.J., Agama-Acevedo. E., Tovar, J. & Bello-Pérez, L.A. (2008). Characterization of a fibre-rich powder prepared by liquefaction of unripe banana flour. *Food Chemistry* 107:1515-152.

Roediger W.E. (1982). Utilization of nutrients by isolated epithelial cells of the rat colon. *Gastroenterology*, 83:42-49.

Rombeau, J.L. & Kriple, S.A. (1990). Metabolic and intestinal effects of short-chain fatty acids. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 14:181S-185S.

Rosado J. L. (1990). Efecto de la ingestión de fibra dietética en el metabolismo de los lípidos. *Ateroma*, 2(7):73-78.

Rubio M. A. (2002). Implicaciones de la fibra en distintas patologías. Nutrición Hospitalaria, 2:17-29.

Ruiz-Ruiz, J., Martínez-Ayala, A., Drago, S., González, R., Betancur-Ancona, D., Chel-Guerrero, L. (2008). Extrusion of a hard-to-cook bean (*Phaseolus vulgaris*, L.) and quality protein maize (*Zea mays* L.) flour blend. Food Science and Technology, 41:1799-807.

SAGARPA. (2003). Síntesis ejecutiva del plátano en el estado de Chiapas. [En línea].<http://www.chp.sagarpa.gob.mx/SectorAgropecuario/agricultura/platano.htm> 21 de marzo del 2003.

San Martín Martínez, E., Aguilar-Mendez, M.A., Espinosa-Solares, T., Pless, R.C. & Quintana Z.D. (2004). Starch phosphates produced by extrusion: Physical properties and influence on yogurt stability. Starch/Stärke, 56:199-207.

Schmiedl, D., Bauerlein, M., Bengs, H. & Jacobasch, G. (2000). Production of heat stable, butyrogenic resistant starch. Carbohydrate Polymers, 43:183-193.

Schneeman, B.O. (1988). Dietary fiber: Physical and chemical properties, methods of analysis and physiological effects. Food technology, 40:104-108.

Sievert, D. & Pomeranz, Y. (1989). Enzyme-resistant starch. I. Characterization and evaluation by enzymatic, thermoanalytical, and microscopic methods. Cereal Chemistry, 66:342-347.

Stanley, D. W. (1989). Protein reaction during extrusion processing. In Extrusion Cooking; Mercier, C., Linko, P., Harper, J.M., Eds.; American Association of Cereal Chemists: St. Paul, MN. pp 321-341.

Tang, J. & Ding, X.L. (1994) Relationship between functional properties and macromolecular modifications of extruded corn starch. Cereal Chemistry, 71(4):364-9.

Tapola, N., Karvonen, H., Niskanen, L., Mikola, M. & Sarkkinen, E. (2005). Glycemic responses of oat bran products in type 2 diabetic patients. Nutrition Metabolism Cardiovascular Disease, 15:255-261.

Tharanathan, R.N. & Mahadevamma, S. (2003). Grain legumes - A boon to human nutrition. Trends in Food and Science Technology, 14:507-518.

Tovar, J. (1992). Bioavailability of starch in processed legumes: Importance of physical inaccessibility and retrogradation. Scandinavian Journal of Nutrition, 36:164-172.

Van den Einde, R.M., Van der Goot, A.J. & Boom, R.M. (2003). Understanding molecular weight reduction of starch during heating-shearing processes. Journal of Food Science, 68:2396-2404.

Wang, S.Y. & Ballington, J.R. (2007). Free radical scavenging capacity and antioxidant enzyme activity in deerberry (*Vaccinium stamineus* L.). Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie, 40:1352-1361.

Wolin, M.J. & Miller, T.L. (1983). Interactions of microbial populations in cellulose fermentations. Federation proceedings, 42:109-113.

Xu, B.J., Yuan, S.H. & Chang, S.K.C. (2007). Comparative analyses of phenolic composition, antioxidant capacity, and color of cool season legumes and other selected food legumes. *Journal of Food Science*. 72(2):S167-S177.

Yoshimoto, Y., Tashiro, J., Takenouchi, T. & Takeda, Y. (2000). Molecular structure and some physicochemical properties of high-amylose barley starch. *Cereal Chemistry*, 77:279-285.

Zhao, Y.H., Manthey, F.A., Chang, S.K.C., Hou, H.J. & Yuan, S.H. 2005. Quality characteristics of spaghetti as affected by green and yellow pea, lentil, and chickpea flours. *Journal of Food Science*, 70(6):S731-S376.

Zeki, B. (2009). Extrusion. *Food Process Engineering and Technology*, 333-350.
Zhang, M., Lian-Piy., Gao, W. & Zhang (2009). Effect of process on physicochemical properties of oat bran soluble dietary fiber. *Journal Food Science* 74 (8); C628-C636.

XI. ANEXO ESTADÍSTICO

Response Densidad

ANOVA for Response Surface Reduced Quadratic Model

Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value	
					Prob > F	
Model	0.14	8	0.017	7.05	0.0021	significant
A-Moisture	0.025	1	0.025	10.2	0.0086	
B-						
Temperature	0.042	1	0.042	17.01	0.0017	
C-						
Concentration	0.02	1	0.02	8.14	0.0157	
AB	6.13E-04	1	6.13E-04	0.25	0.6272	
AC	0.025	1	0.025	10.32	0.0083	
BC	1.13E-04	1	1.13E-04	0.046	0.8344	
A ²	0.015	1	0.015	6	0.0322	
B ²	0.013	1	0.013	5.36	0.041	
Residual	0.027	11	2.45E-03			
Lack of Fit	0.011	6	1.88E-03	0.6	0.7247	not significant
Pure Error	0.016	5	3.14E-03			
Cor Total	0.17	19				

The Model F-value of 7.05 implies the model is significant. There is only a 0.21% chance that a "Model F-Value" this large could occur due to noise.

Values of "Prob > F" less than 0.0500 indicate model terms are significant.

In this case A, B, C, AC, A², B² are significant model terms.

Values greater than 0.1000 indicate the model terms are not significant.

If there are many insignificant model terms (not counting those required to support hierarchy), model reduction may improve your model.

The "Lack of Fit F-value" of 0.60 implies the Lack of Fit is not significant relative to the pure error. There is a 72.47% chance that a "Lack of Fit F-value" this large could occur due to noise. Non-significant lack of fit is good -- we want the model to fit.

Std. Dev.	0.05	R-Squared	0.8368
Mean	0.29	Adj R-Squared	0.718
C.V. %	17.2	Pred R-Squared	0.4164
PRESS	0.096	Adeq Precision	9.744

The "Pred R-Squared" of 0.4164 is not as close to the "Adj R-Squared" of 0.7180 as one might normally expect. This may indicate a large block effect or a possible problem with your model and/or data. Things to consider are model reduction, response transformation, outliers, etc.

Adeq Precision measures the signal to noise ratio. A ratio greater than 4 is desirable. Your ratio of 9.744 indicates an adequate signal. This model can be used to navigate the design space.

	Coefficient		Standard	95% CI	95% CI	
Factor	Estimate	df	Error	Low	High	VIF
Intercept	0.25	1	0.017	0.21	0.28	
A-Moisture	0.043	1	0.013	0.013	0.072	1
B-Temperature	-0.055	1	0.013	-0.085	-0.026	1
C-Concentration	0.038	1	0.013	8.74E-03	0.068	1
AB	-8.75E-03	1	0.018	-0.047	0.03	1
AC	0.056	1	0.018	0.018	0.095	1
BC	3.75E-03	1	0.018	-0.035	0.042	1
A ²	0.032	1	0.013	3.24E-03	0.06	1.01
B ²	0.03	1	0.013	1.47E-03	0.059	1.01

Final Equation in Terms of Coded Factors:

$$\begin{aligned} \text{Density} = & \\ & 0.25 \\ & 0.043 * A \\ & -0.055 * B \\ & 0.038 * C \\ & -8.75E-03 * A * B \\ & 0.056 * A * C \\ & 3.75E-03 * B * C \\ & 0.032 * A^2 \\ & 0.03 * B^2 \end{aligned}$$

Final Equation in Terms of Actual Factors:

$$\begin{aligned} \text{Densidad} = & \\ & 7.65758 \\ & -0.32955 * \text{Moisture} \\ & -0.040424 * \text{Temperature} \\ & -0.021034 * \text{Concentration} \\ & -2.92E-04 * \text{Moisture} * \text{Temperature} \\ & 9.53E-04 * \text{Moisture} * \text{Concentration} \\ & 8.47E-06 * \text{Temperature} * \text{Concentration} \\ & 7.95E-03 * \text{Moisture}^2 \\ & 1.34E-04 * \text{Temperature}^2 \end{aligned}$$

The Diagnostics Case Statistics Report has been moved to the Diagnostics Node.

In the Diagnostics Node, Select Case Statistics from the View Menu.

Proceed to Diagnostic Plots (the next icon in progression). Be sure to look at the:

- 1) Normal probability plot of the studentized residuals to check for normality of residuals.
- 2) Studentized residuals versus predicted values to check for constant error.
- 3) Externally Studentized Residuals to look for outliers, i.e., influential values.
- 4) Box-Cox plot for power transformations.

If all the model statistics and diagnostic plots are OK, finish up with the Model Graphs icon.

Response IAA

ANOVA for Response Surface Reduced Quadratic Model
Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]

Source	Sum of		Mean Square	F Value	p-value	Prob > F
	Squares	df				
Model	40.98	8	5.12	4.97	0.0084	significant
A-Moisture	5.48	1	5.48	5.31	0.0417	
B-						
Temperature	13.3	1	13.3	12.89	0.0042	
C-						
Concentration	1.26	1	1.26	1.22	0.293	
AB	5.36	1	5.36	5.2	0.0435	
AC	1.52	1	1.52	1.48	0.2498	
BC	2.73	1	2.73	2.64	0.1323	
B ²	8.53	1	8.53	8.27	0.0151	
C ²	3.72	1	3.72	3.61	0.084	
Residual	11.34	11	1.03			not significant
Lack of Fit	5.85	6	0.98	0.89	0.5632	
Pure Error	5.49	5	1.1			
Cor Total	52.32	19				

The Model F-value of 4.97 implies the model is significant. There is only a 0.84% chance that a "Model F-Value" this large could occur due to noise.

Values of "Prob > F" less than 0.0500 indicate model terms are significant.

In this case A, B, AB, B² are significant model terms.

Values greater than 0.1000 indicate the model terms are not significant.

If there are many insignificant model terms (not counting those required to support hierarchy), model reduction may improve your model.

The "Lack of Fit F-value" of 0.89 implies the Lack of Fit is not significant relative to the pure error. There is a 56.32% chance that a "Lack of Fit F-value" this large could occur due

to noise. Non-significant lack of fit is good -- we want the model to fit.

Std. Dev.	1.02	R-Squared	0.7832
Mean	5.07	Adj R-Squared	0.6255
		Pred R-	
C.V. %	20.04	Squared	0.1626
		Adeq	
PRESS	43.81	Precision	7.672

The "Pred R-Squared" of 0.1626 is not as close to the "Adj R-Squared" of 0.6255 as one might normally expect. This may indicate a large block effect or a possible problem with your model and/or data. Things to consider are model reduction, response transformation, outliers, etc.

Adeq Precision measures the signal to noise ratio. A ratio greater than 4 is desirable.
Your

ratio of 7.672 indicates an adequate signal. This model can be used to navigate the design space.

Factor	Coefficient		Standard Error	95% CI		VIF
	Estimate	df		Low	High	
Intercept	5.94	1	0.35	5.16	6.71	
A-Moisture	0.63	1	0.27	0.029	1.24	1
B-Temperature	-0.99	1	0.27	-1.59	-0.38	1
C-Concentration	0.3	1	0.27	-0.3	0.91	1
AB	0.82	1	0.36	0.028	1.61	1
AC	0.44	1	0.36	-0.35	1.23	1
BC	0.58	1	0.36	-0.21	1.37	1
B ²	-0.77	1	0.27	-1.35	-0.18	1.01
C ²	-0.51	1	0.27	-1.09	0.08	1.01

Final Equation in Terms of Coded Factors:

$$\begin{aligned}
 IAA &= \\
 &5.94 \\
 &0.63 * A \\
 &-0.99 * B \\
 &0.3 * C \\
 &0.82 * A * B \\
 &0.44 * A * C \\
 &0.58 * B * C \\
 &-0.77 * B^2 \\
 &-0.51 * C^2
 \end{aligned}$$

Final Equation in Terms of Actual Factors:

IAA =
 35.17179
 -4.41967 * Moisture
 0.35671 * Temperature
 -0.30534 * Concentration
 0.027292 * Moisture * Temperature
 7.39E-03 * Moisture * Concentration
 1.32E-03 * Temperature * Concentration
 -3.40E-03 * Temperature²
 -5.81E-04 * Concentration²

The Diagnostics Case Statistics Report has been moved to the Diagnostics Node.
 In the Diagnostics Node, Select Case Statistics from the View Menu.

Proceed to Diagnostic Plots (the next icon in progression). Be sure to look at the:

- 1) Normal probability plot of the studentized residuals to check for normality of residuals.
- 2) Studentized residuals versus predicted values to check for constant error.
- 3) Externally Studentized Residuals to look for outliers, i.e., influential values.
- 4) Box-Cox plot for power transformations.

If all the model statistics and diagnostic plots are OK, finish up with the Model Graphs icon.

Response ISA

ANOVA for Response Surface Quadratic Model
 Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]

Source	Sum of		Mean Square	F Value	p-value	Prob > F
	Squares	df				
Model	1468.73	9	163.19	6.16	0.0044	significant
A-Moisture	77.88	1	77.88	2.94	0.1172	
B-						
Temperature	508.25	1	508.25	19.19	0.0014	
C-						
Concentration	288.55	1	288.55	10.89	0.008	
AB	172.42	1	172.42	6.51	0.0288	
AC	15.68	1	15.68	0.59	0.4594	
BC	7.76	1	7.76	0.29	0.6001	
A ²	60.09	1	60.09	2.27	0.1629	
B ²	333.45	1	333.45	12.59	0.0053	
C ²	59.26	1	59.26	2.24	0.1656	
Residual	264.87	10	26.49			
Lack of Fit	127.67	5	25.53	0.93	0.5305	not significant
Pure Error	137.2	5	27.44			

Cor Total	1733.6	19
-----------	--------	----

The Model F-value of 6.16 implies the model is significant. There is only a 0.44% chance that a "Model F-Value" this large could occur due to noise.

Values of "Prob > F" less than 0.0500 indicate model terms are significant.

In this case B, C, AB, B² are significant model terms.

Values greater than 0.1000 indicate the model terms are not significant.

If there are many insignificant model terms (not counting those required to support hierarchy), model reduction may improve your model.

The "Lack of Fit F-value" of 0.93 implies the Lack of Fit is not significant relative to the pure error. There is a 53.05% chance that a "Lack of Fit F-value" this large could occur due to noise. Non-significant lack of fit is good -- we want the model to fit.

Std. Dev.	5.15	R-Squared	0.8472
Mean	29.52	Adj R-Squared	0.7097
		Pred R-	
C.V. %	17.43	Squared	0.3263
		Adeq	
PRESS	1168	Precision	7.746

The "Pred R-Squared" of 0.3263 is not as close to the "Adj R-Squared" of 0.7097 as one might normally expect. This may indicate a large block effect or a possible problem with your model and/or data. Things to consider are model reduction, response transformation, outliers, etc.

Adeq Precision measures the signal to noise ratio. A ratio greater than 4 is desirable.
Your

ratio of 7.746 indicates an adequate signal. This model can be used to navigate the design space.

Coefficient Factor	Standard Estimate	95% CI df	95% CI			VIF
			Error	Low	High	
Intercept	23.46	1	2.1	18.78	28.13	
A-Moisture	-2.39	1	1.39	-5.49	0.71	1
B-Temperature	6.1	1	1.39	3	9.2	1
C-Concentration	-4.6	1	1.39	-7.7	-1.49	1
AB	-4.64	1	1.82	-8.7	-0.59	1
AC	-1.4	1	1.82	-5.45	2.65	1
BC	-0.98	1	1.82	-5.04	3.07	1
A ²	2.04	1	1.36	-0.98	5.06	1.02
B ²	4.81	1	1.36	1.79	7.83	1.02
C ²	2.03	1	1.36	-0.99	5.05	1.02

Final Equation in Terms of Coded Factors:

WSI =
 23.46
 -2.39 * A
 6.1 * B
 -4.6 * C
 -4.64 * A * B
 -1.4 * A * C
 -0.98 * B * C
 2.04 * A²
 4.81 * B²
 2.03 * C²

Final Equation in Terms of Actual Factors:

WSI =
 204.004
 2.2916 * Moisture
 -2.9187 * Temperature
 0.48937 * Concentration
 -0.15475 * Moisture * Temperature
 -0.023729 * Moisture * Concentration
 -2.23E-03 * Temperature * Concentration
 0.51047 * Moisture²
 0.021379 * Temperature²
 2.33E-03 * Concentration²

The Diagnostics Case Statistics Report has been moved to the Diagnostics Node.
 In the Diagnostics Node, Select Case Statistics from the View Menu.

Proceed to Diagnostic Plots (the next icon in progression). Be sure to look at the:

- 1) Normal probability plot of the studentized residuals to check for normality of residuals.
- 2) Studentized residuals versus predicted values to check for constant error.
- 3) Externally Studentized Residuals to look for outliers, i.e., influential values.
- 4) Box-Cox plot for power transformations.

If all the model statistics and diagnostic plots are OK, finish up with the Model Graphs icon.

Response L

ANOVA for Response Surface Quadratic Model

Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]

Source	Sum of		Mean Square	F Value	p-value	Prob > F
	Squares	df				
Model	172.76	9	19.2	32.88	< 0.0001	significant
A-Moisture	3.71	1	3.71	6.36	0.0303	
B-Temperature	61.37	1	61.37	105.13	< 0.0001	
C-Concentration	27.7	1	27.7	47.45	< 0.0001	
AB	17.96	1	17.96	30.76	0.0002	
AC	8.13E-03	1	8.13E-03	0.014	0.9084	
BC	11.36	1	11.36	19.47	0.0013	
A ²	25.8	1	25.8	44.21	< 0.0001	
B ²	18.68	1	18.68	32	0.0002	
C ²	1.46	1	1.46	2.5	0.1451	
Residual	5.84	10	0.58			
Lack of Fit	3.4	5	0.68	1.39	0.3621	not significant
Pure Error	2.44	5	0.49			
Cor Total	178.59	19				

The Model F-value of 32.88 implies the model is significant. There is only a 0.01% chance that a "Model F-Value" this large could occur due to noise.

Values of "Prob > F" less than 0.0500 indicate model terms are significant.

In this case A, B, C, AB, BC, A², B² are significant model terms.

Values greater than 0.1000 indicate the model terms are not significant.

If there are many insignificant model terms (not counting those required to support hierarchy), model reduction may improve your model.

The "Lack of Fit F-value" of 1.39 implies the Lack of Fit is not significant relative to the pure error. There is a 36.21% chance that a "Lack of Fit F-value" this large could occur due to noise. Non-significant lack of fit is good -- we want the model to fit.

Std. Dev.	0.76	R-Squared	0.9673
Mean	62.98	Adj R-Squared	0.9379
C.V. %	1.21	Pred R-Squared	0.835
PRESS	29.48	Adeq Precision	25.963

The "Pred R-Squared" of 0.8350 is in reasonable agreement with the "Adj R-Squared" of 0.9379.

Adeq Precision measures the signal to noise ratio. A ratio greater than 4 is desirable.

Your

ratio of 25.963 indicates an adequate signal. This model can be used to navigate the design space.

Coefficient Factor	Estimate	df	Standard Error	95% CI		VIF
				Low	High	
Intercept	62.63	1	0.31	61.93	63.32	
A-Moisture	-0.52	1	0.21	-0.98	-0.061	1
B-Temperature	-2.12	1	0.21	-2.58	-1.66	1
C-Concentration	-1.42	1	0.21	-1.88	-0.96	1
AB	1.5	1	0.27	0.9	2.1	1
AC	-0.032	1	0.27	-0.63	0.57	1
BC	1.19	1	0.27	0.59	1.79	1
A^2	1.34	1	0.2	0.89	1.79	1.02
B^2	-1.14	1	0.2	-1.59	-0.69	1.02
C^2	0.32	1	0.2	-0.13	0.77	1.02

Final Equation in Terms of Coded Factors:

$$\begin{aligned}
 L &= \\
 &62.63 \\
 &-0.52 * A \\
 &-2.12 * B \\
 &-1.42 * C \\
 &1.5 * A * B \\
 &-0.032 * A * C \\
 &1.19 * B * C \\
 &1.34 * A^2 \\
 &-1.14 * B^2 \\
 &0.32 * C^2
 \end{aligned}$$

Final Equation in Terms of Actual Factors:

$$\begin{aligned}
 L &= \\
 &323.40134 \\
 &-22.94265 * \text{Moisture} \\
 &0.24464 * \text{Temperature} \\
 &-0.5039 * \text{Concentration} \\
 &0.049938 * \text{Moisture} * \text{Temperature} \\
 &-5.40E-04 * \text{Moisture} * \text{Concentration} \\
 &2.69E-03 * \text{Temperature} * \text{Concentration} \\
 &0.33452 * \text{Moisture}^2 \\
 &-5.06E-03 * \text{Temperature}^2 \\
 &3.66E-04 * \text{Concentration}^2
 \end{aligned}$$

The Diagnostics Case Statistics Report has been moved to the Diagnostics Node.
In the Diagnostics Node, Select Case Statistics from the View Menu.

Proceed to Diagnostic Plots (the next icon in progression). Be sure to look at the:

- 1) Normal probability plot of the studentized residuals to check for normality of residuals.
- 2) Studentized residuals versus predicted values to check for constant error.
- 3) Externally Studentized Residuals to look for outliers, i.e., influential values.
- 4) Box-Cox plot for power transformations.

If all the model statistics and diagnostic plots are OK, finish up with the Model Graphs icon.

Response VM

ANOVA for Response Surface Reduced Quadratic Model
Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]

Source	Sum of		Mean	F	p-value	Prob > F
	Squares	df	Square	Value		
Model	8.31E+05	7	1.19E+05	8.66	0.0007	significant
A-Moisture	64024.31	1	64024.31	4.67	0.0516	
B-						
Temperature	89038.81	1	89038.81	6.49	0.0255	
C-						
Concentration	3.81E+05	1	3.81E+05	27.82	0.0002	
AB	1.07E+05	1	1.07E+05	7.82	0.0162	
AC	28800	1	28800	2.1	0.1729	
BC	1.04E+05	1	1.04E+05	7.58	0.0175	
A ²	56697.7	1	56697.7	4.14	0.0647	
Residual	1.65E+05	12	13709.87			
Lack of Fit	1.26E+05	7	17967.08	2.32	0.1858	not significant
Pure Error	38748.83	5	7749.77			
Cor Total	9.96E+05	19				

The Model F-value of 8.66 implies the model is significant. There is only a 0.07% chance that a "Model F-Value" this large could occur due to noise.

Values of "Prob > F" less than 0.0500 indicate model terms are significant.

In this case B, C, AB, BC are significant model terms.

Values greater than 0.1000 indicate the model terms are not significant.

If there are many insignificant model terms (not counting those required to support hierarchy), model reduction may improve your model.

The "Lack of Fit F-value" of 2.32 implies the Lack of Fit is not significant relative to the pure error. There is a 18.58% chance that a "Lack of Fit F-value" this large could occur due

to noise. Non-significant lack of fit is good -- we want the model to fit.

Std. Dev.	117.09	R-Squared	0.8348
Mean	807.15	Adj R-Squared	0.7384
		Pred R-	
C.V. %	14.51	Squared	0.2615
		Adeq	
PRESS	7.35E+05	Precision	11.441

The "Pred R-Squared" of 0.2615 is not as close to the "Adj R-Squared" of 0.7384 as one might normally expect. This may indicate a large block effect or a possible problem with your model and/or data. Things to consider are model reduction, response transformation, outliers, etc.

Adeq Precision measures the signal to noise ratio. A ratio greater than 4 is desirable.
Your

ratio of 11.441 indicates an adequate signal. This model can be used to navigate the design space.

Coefficient	Estimate	df	Standard Error	95% CI		VIF
				Low	High	
Intercept	764.71	1	33.48	691.75	837.66	
A-Moisture	68.47	1	31.68	-0.56	137.5	1
B-Temperature	-80.74	1	31.68	-149.78	-11.71	1
C-Concentration	-167.12	1	31.68	-236.16	-98.09	1
AB	115.75	1	41.4	25.55	205.95	1
AC	60	1	41.4	-30.2	150.2	1
BC	114	1	41.4	23.8	204.2	1
A ²	62.16	1	30.57	-4.44	128.76	1

Final Equation in Terms of Coded Factors:

$$\begin{aligned} \text{VM} &= \\ &764.71 \\ &68.47 * A \\ &-80.74 * B \\ &-167.12 * C \\ &115.75 * A * B \\ &60 * A * C \\ &114 * B * C \\ &62.16 * A^2 \end{aligned}$$

Final Equation in Terms of Actual Factors:

$$\begin{aligned} \text{VM} &= \\ &25438.2534 \end{aligned}$$

-1317.69001 * Moisture
 -103.14767 * Temperature
 -69.25836 * Concentration
 3.85833 * Moisture * Temperature
 1.01695 * Moisture * Concentration
 0.25763 * Temperature * Concentration
 15.53964 * Moisture²

The Diagnostics Case Statistics Report has been moved to the Diagnostics Node.

In the Diagnostics Node, Select Case Statistics from the View Menu.

Proceed to Diagnostic Plots (the next icon in progression). Be sure to look at the:

- 1) Normal probability plot of the studentized residuals to check for normality of residuals.
- 2) Studentized residuals versus predicted values to check for constant error.
- 3) Externally Studentized Residuals to look for outliers, i.e., influential values.
- 4) Box-Cox plot for power transformations.

If all the model statistics and diagnostic plots are OK, finish up with the Model Graphs icon.

Response VF

ANOVA for Response Surface Quadratic Model
Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]

Source	Sum of		Mean Square	F Value	p-value	Prob > F
	Squares	df				
Model	59631.25	9	6625.69	5.82	0.0055	significant
A-Moisture	1041.64	1	1041.64	0.92	0.3613	
B-						
Temperature	14381.53	1	14381.53	12.64	0.0052	
C-						
Concentration	6987.3	1	6987.3	6.14	0.0327	
AB	13612.5	1	13612.5	11.96	0.0061	
AC	5000	1	5000	4.39	0.0625	
BC	6844.5	1	6844.5	6.01	0.0341	
A ²	7158.36	1	7158.36	6.29	0.031	
B ²	5656.84	1	5656.84	4.97	0.0499	
C ²	586.11	1	586.11	0.52	0.4894	
Residual	11380.55	10	1138.05			
Lack of Fit	8724.55	5	1744.91	3.28	0.1089	not significant
Pure Error	2656	5	531.2			
Cor Total	71011.8	19				

The Model F-value of 5.82 implies the model is significant. There is only a 0.55% chance that a "Model F-Value" this large could occur due to noise.

Values of "Prob > F" less than 0.0500 indicate model terms are significant.

In this case B, C, AB, BC, A²,B² are significant model terms.

Values greater than 0.1000 indicate the model terms are not significant.

If there are many insignificant model terms (not counting those required to support hierarchy), model reduction may improve your model.

The "Lack of Fit F-value" of 3.28 implies the Lack of Fit is not significant relative to the pure error. There is a 10.89% chance that a "Lack of Fit F-value" this large could occur due to noise. Non-significant lack of fit is good -- we want the model to fit.

Std. Dev.	33.74	R-Squared	0.8397
Mean	93.1	Adj R-Squared	0.6955
		Pred R-	
C.V. %	36.24	Squared	0.0053
		Adeq	
PRESS	70632.53	Precision	10.172

The "Pred R-Squared" of 0.0053 is not as close to the "Adj R-Squared" of 0.6955 as one might normally expect. This may indicate a large block effect or a possible problem with your model and/or data. Things to consider are model reduction, response transformation, outliers, etc.

Adeq Precision measures the signal to noise ratio. A ratio greater than 4 is desirable.

Your

ratio of 10.172 indicates an adequate signal. This model can be used to navigate the design space.

Coefficient Factor	Standard Estimate	95% CI df	95% CI			VIF
			Error	Low	High	
Intercept	60	1	13.76	29.34	90.65	
A-Moisture	8.73	1	9.13	-11.61	29.07	1
B-Temperature	-32.45	1	9.13	-52.79	-12.11	1
C-Concentration	-22.62	1	9.13	-42.96	-2.28	1
AB	41.25	1	11.93	14.67	67.83	1
AC	25	1	11.93	-1.58	51.58	1
BC	29.25	1	11.93	2.67	55.83	1
A ²	22.29	1	8.89	2.49	42.09	1.02
B ²	19.81	1	8.89	0.012	39.61	1.02
C ²	6.38	1	8.89	-13.42	26.18	1.02

Final Equation in Terms of Coded Factors:

$$VF =$$

60
8.73 * A
-32.45 * B
-22.62 * C
41.25 * A * B
25 * A * C
29.25 * B * C
22.29 * A²
19.81 * B²
6.38 * C²

Final Equation in Terms of Actual Factors:

VF =
11152.6003
-481.97892 * Moisture
-63.89601 * Temperature
-21.39787 * Concentration
1.375 * Moisture * Temperature
0.42373 * Moisture * Concentration
0.066102 * Temperature * Concentration
5.5718 * Moisture²
0.088055 * Temperature²
7.33E-03 * Concentration²

The Diagnostics Case Statistics Report has been moved to the Diagnostics Node.

In the Diagnostics Node, Select Case Statistics from the View Menu.

Proceed to Diagnostic Plots (the next icon in progression). Be sure to look at the:

- 1) Normal probability plot of the studentized residuals to check for normality of residuals.
- 2) Studentized residuals versus predicted values to check for constant error.
- 3) Externally Studentized Residuals to look for outliers, i.e., influential values.
- 4) Box-Cox plot for power transformations.

If all the model statistics and diagnostic plots are OK, finish up with the Model Graphs icon.

Response AT

ANOVA for Response Surface Reduced Quadratic Model

Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]

Source	Sum of Squares	df	Mean	F	p-value	
			Square	Value	Prob > F	
Model	1086.49	7	155.21	18.17	< 0.0001	significant
A-Moisture	24.81	1	24.81	2.9	0.114	
B-Temperature	40.28	1	40.28	4.72	0.0507	
C-Concentration	987.6	1	987.6	115.61	< 0.0001	
AB	12.5	1	12.5	1.46	0.2497	
AC	2	1	2	0.23	0.6372	
BC	0	1	0	0	1	
B ²	19.3	1	19.3	2.26	0.1587	
Residual	102.51	12	8.54			
Lack of Fit	45.18	7	6.45	0.56	0.7638	not significant
Pure Error	57.33	5	11.47			
Cor Total	1189	19				

The Model F-value of 18.17 implies the model is significant. There is only a 0.01% chance that a "Model F-Value" this large could occur due to noise.

Values of "Prob > F" less than 0.0500 indicate model terms are significant.

In this case C are significant model terms.

Values greater than 0.1000 indicate the model terms are not significant.

If there are many insignificant model terms (not counting those required to support hierarchy), model reduction may improve your model.

The "Lack of Fit F-value" of 0.56 implies the Lack of Fit is not significant relative to the pure error. There is a 76.38% chance that a "Lack of Fit F-value" this large could occur due to noise. Non-significant lack of fit is good -- we want the model to fit.

Std. Dev.	2.92	R-Squared	0.9138
Mean	52.5	Adj R-Squared	0.8635
		Pred R-	
C.V. %	5.57	Squared	0.737
		Adeq	
PRESS	312.71	Precision	15.474

The "Pred R-Squared" of 0.7370 is in reasonable agreement with the "Adj R-Squared" of 0.8635.

Adeq Precision measures the signal to noise ratio. A ratio greater than 4 is desirable.
Your

ratio of 15.474 indicates an adequate signal. This model can be used to navigate the design space.

Coefficient	Standard	95% CI	95% CI
-------------	----------	--------	--------

Factor	Estimate	df	Error	Low	High	VIF
Intercept	51.72	1	0.84	49.9	53.54	
A-Moisture	-1.35	1	0.79	-3.07	0.38	1
B-Temperature	-1.72	1	0.79	-3.44	5.79E-03	1
C-Concentration	-8.5	1	0.79	-10.23	-6.78	1
AB	-1.25	1	1.03	-3.5	1	1
AC	0.5	1	1.03	-1.75	2.75	1
BC	0	1	1.03	-2.25	2.25	1
B^2	1.15	1	0.76	-0.52	2.81	1

Final Equation in Terms of Coded Factors:

$$\begin{aligned} AT &= \\ &51.72 \\ &-1.35 * A \\ &-1.72 * B \\ &-8.5 * C \\ &-1.25 * A * B \\ &0.5 * A * C \\ &0 * B * C \\ &1.15 * B^2 \end{aligned}$$

Final Equation in Terms of Actual Factors:

$$\begin{aligned} AT &= \\ &92.41013 \\ &5.56896 * \text{Moisture} \\ &-0.8288 * \text{Temperature} \\ &-0.47471 * \text{Concentration} \\ &-0.041667 * \text{Moisture} * \text{Temperature} \\ &8.47E-03 * \text{Moisture} * \text{Concentration} \\ &-2.27E-17 * \text{Temperature} * \text{Concentration} \\ &5.10E-03 * \text{Temperature}^2 \end{aligned}$$

The Diagnostics Case Statistics Report has been moved to the Diagnostics Node.
In the Diagnostics Node, Select Case Statistics from the View Menu.

Proceed to Diagnostic Plots (the next icon in progression). Be sure to look at the:

- 1) Normal probability plot of the studentized residuals to check for normality of residuals.
- 2) Studentized residuals versus predicted values to check for constant error.
- 3) Externally Studentized Residuals to look for outliers, i.e., influential values.

4) Box-Cox plot for power transformations.

If all the model statistics and diagnostic plots are OK, finish up with the Model Graphs icon.

Response AR						
ANOVA for Response Surface Reduced Quadratic Model						
Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]						
		Sum of Squares		Mean Square		F Value
Source	df					p-value
Model		1.35	7	0.19	9	0.0006 significant
A-Moisture		0.22	1	0.22	10.39	0.0073
B-						
Temperature		5.27E-03	1	5.27E-03	0.25	0.6285
C-						
Concentration		0.52	1	0.52	24.57	0.0003
AB		0.28	1	0.28	13.17	0.0035
BC		0.031	1	0.031	1.46	0.2497
B ²		0.22	1	0.22	10.23	0.0076
C ²		0.043	1	0.043	2	0.1823
Residual		0.26	12	0.021		
Lack of Fit		0.063	7	9.00E-03	0.23	0.9584 not significant
Pure Error		0.19	5	0.039		
Cor Total		1.6	19			

The Model F-value of 9.00 implies the model is significant. There is only a 0.06% chance that a "Model F-Value" this large could occur due to noise.

Values of "Prob > F" less than 0.0500 indicate model terms are significant.

In this case A, C, AB, B² are significant model terms.

Values greater than 0.1000 indicate the model terms are not significant.

If there are many insignificant model terms (not counting those required to support hierarchy), model reduction may improve your model.

The "Lack of Fit F-value" of 0.23 implies the Lack of Fit is not significant relative to the pure error. There is a 95.84% chance that a "Lack of Fit F-value" this large could occur due to noise. Non-significant lack of fit is good -- we want the model to fit.

Std. Dev.	0.15	R-Squared	0.84
Mean	1.77	Adj R-Squared	0.7467
		Pred R-	
C.V. %	8.26	Squared	0.6809

	Adeq	
PRESS	0.51	Precision
		12.409

The "Pred R-Squared" of 0.6809 is in reasonable agreement with the "Adj R-Squared" of 0.7467.

Adeq Precision measures the signal to noise ratio. A ratio greater than 4 is desirable.
Your

ratio of 12.409 indicates an adequate signal. This model can be used to navigate the design space.

Coefficient Factor	Standard Estimate	95% CI df	95% CI			VIF
			Error	Low	High	
Intercept	1.82	1	0.051	1.71	1.93	
A-Moisture	0.13	1	0.04	0.041	0.21	1
B-Temperature	-0.02	1	0.04	-0.11	0.067	1
C-Concentration	-0.2	1	0.04	-0.28	-0.11	1
AB	0.19	1	0.052	0.075	0.3	1
BC	-0.062	1	0.052	-0.18	0.05	1
B ²	-0.12	1	0.038	-0.21	-0.039	1.01
C ²	0.054	1	0.038	-0.029	0.14	1.01

Final Equation in Terms of Coded Factors:

$$\begin{aligned}
 RS &= \\
 &1.82 \\
 &0.13 * A \\
 &-0.02 * B \\
 &-0.2 * C \\
 &0.19 * A * B \\
 &-0.062 * B * C \\
 &-0.12 * B^2 \\
 &0.054 * C^2
 \end{aligned}$$

Final Equation in Terms of Actual Factors:

$$\begin{aligned}
 RS &= \\
 &8.03893 \\
 &-0.93626 * \text{Moisture} \\
 &0.042542 * \text{Temperature} \\
 &9.72E-03 * \text{Concentration} \\
 &6.25E-03 * \text{Moisture} * \text{Temperature} \\
 &-1.41E-04 * \text{Temperature} * \text{Concentration} \\
 &-5.45E-04 * \text{Temperature}^2 \\
 &6.23E-05 * \text{Concentration}^2
 \end{aligned}$$

The Diagnostics Case Statistics Report has been moved to the Diagnostics Node.
In the Diagnostics Node, Select Case Statistics from the View Menu.

Proceed to Diagnostic Plots (the next icon in progression). Be sure to look at the:

- 1) Normal probability plot of the studentized residuals to check for normality of residuals.
- 2) Studentized residuals versus predicted values to check for constant error.
- 3) Externally Studentized Residuals to look for outliers, i.e., influential values.
- 4) Box-Cox plot for power transformations.

If all the model statistics and diagnostic plots are OK, finish up with the Model Graphs icon.