



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE  
CHIHUAHUA

Oficio SIP/267/2018  
Chihuahua, Chih. 16 de Marzo del 2018

**M.A.P. Edel Omar Montoya Maldonado**  
**Coordinador de Gestoría y Fortalecimiento Externo**  
**PRODEP**  
**Presente.**

Como responsable del Cuerpo Académico consolidado CHIH-UACH-064 "Epidemiología y Caracterización Molecular," me permito hacer de su conocimiento el impacto de la publicación intitulada Multidrug-resistant bacteria isolated from surface water in Bassaseachic Falls National Park, Mexico, de los autores Ma. Carmen E. Delgado-Gardea, Patricia Tamez-Guerra, Ricardo Gómez-Flores, Francisco Javier Zavala-Díaz De La Serna, Gilberto Erosa de la Vega, Guadalupe Virginia Nevárez-Moorillón, María Concepción Pérez-Recoder, Blanca Sánchez-Ramírez, María Del Carmen González-Horta y Rocío Infante-Ramírez. Dicho artículo fue publicado en el International Journal of Environmental Research and Public Health, revista indexada en el Journal Citation Reports con un impacto de 2.101. Esta publicación es el resultado del trabajo colaborativo del cuerpo académico, así como de profesores de otros cuerpos académicos de la institución e interinstitucional, lo cual contribuirá a que el cuerpo académico mantenga su estatus de consolidación. Adicionalmente, la publicación de artículos en revistas Open Access promueve una mayor difusión de los resultados y facilitando también la generación de citas al trabajo.

Agradecemos el apoyo recibido de la Sria. De Planeación de la Universidad Autónoma de Chihuahua para la gestión y obtención de los recursos para dicha publicación.

Sin más por el momento, quedo de ud.

Atentamente  
"Por la Ciencia para Bien del Hombre"

  
**Dra. Blanca Estela Sánchez Ramírez**  
Responsable del CA CHIH-UACH-064



FACULTAD DE  
CIENCIAS QUÍMICAS  
SECRETARÍA DE  
INVESTIGACIÓN  
Y POSGRADO

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS  
Circuito Universitario  
Campus Universitario #2 C.P. 31125  
Tel. +52 (614) 236 6000  
Chihuahua, Chihuahua, México  
<http://www.fcq.uach.mx>

Chihuahua, Chih. 28 de abril de 2017

**L.E.I. EDEL OMAR MONTOYA MALDONADO**

**Representante institucional ante Promep**

**Presente.-**

A través de la presente le saludo y hago de su conocimiento las actividades que han sido beneficiadas con el apoyo que se recibe para la publicación de los artículos científicos, producto de la colaboración entre los integrantes del cuerpo académico: UACH-CA-101 – Innovación Educativa y UACH-CA-121 – Desarrollo Personal Actividad Física y Calidad de Vida. Se ha logrado impactar en los indicadores de calidad que se declaran en el Plan de Desarrollo Universitario 2011-2021 de nuestra universidad, específicamente la **consolidación** de las líneas de investigación de los dos cuerpos académicos antes mencionados y la obtención del reconocimiento del Sistema Nacional de Investigadores (SNI) para ocho de sus integrantes.

De la misma manera se ha favorecido la formación de recursos humanos en el área de investigación a nivel maestría y doctorado, en especial los colaboradores estudiantes que se habilitan y desarrollan su potencial como investigadores que contribuyan al conocimiento científico en área de la actividad física y la salud.

Los estudiantes a nivel maestría que han participado son: Edgar Francisco Ordoñez Bencomo y Marcela Iveth Domínguez Amador.

A nivel doctorado los estudiantes que han colaborado en los productos de investigación son: Perla Jannét Jurado García, Susana Ivonne Aguirre Vásquez, María de los Ángeles Bibiano Mejía, Elia Verónica Benavides Pando, Juan Cristóbal Barrón Luján, José René Blanco Ornelas y Yunuen Rangel Ledezma, estos dos últimos han adquirido el grado de Doctor en Educación en 2015 y Doctor en Ciencias de la Cultura Física en 2016 respectivamente. En su caso la Dra. Rangel Ledezma logró su ingreso al Sistema Nacional de Investigadores en la convocatoria 2016.

Las líneas de generación y aplicación del conocimiento que se han fortalecido con los productos de los últimos años son: Factores psicosociales, actividad física y calidad de vida del CA-121 y Desarrollo de instrumentos de medición en educación y ciencias sociales del CA-101 que en conjunto con la Universidad de Nuevo León en México, Universidad de Granada y Universidad de Valencia en España, hemos desarrollado el proyecto de red "Sistemas de Medición y Evaluación en la Formación de Recursos Humanos en el Área de la Cultura Física y Deporte" durante los últimos tres años. Los estudiantes antes mencionados han colaborado directamente en el proyecto de red y generado productos como parte de su proceso de formación.

Sin más por el momento, le agradezco su atención a la presente.

**Atentamente**

**"Educar para la vida, a través del movimiento"**

  
Dra. Judith Margarita Rodríguez Villalobos

Representante del CA 121 "Desarrollo Personal, Actividad Física y Calidad de Vida"

Chihuahua, Chih., 4 de mayo de 2017

**ASUNTO:**

Reporte de impacto académico artículo "*Social Network in University Students: Academic Use and Learning Scenarios*".

**LIC. EDEL OMAR MONTOYA MALDONADO  
REPRESENTANTE INSTITUCIONAL ANTE PRODEP  
PRESENTE.-**

De acuerdo a lo solicitado por PRODEP, se presenta un informe del impacto académico del artículo publicado y titulado: "*Social Network in University Students: Academic Use and Learning Scenarios*". El cual ha sido publicado en la revista *International Review of Management and Business Research (IRMBR)* ISSN: 2306-9007, Vol. 5, Issue 3, part2, September 2016, pp. 1039-10417 revista indizada en bases de datos internacionales como: Thompson Reuters, Scopus, Copernicus, ProQuest, entre otras.

Para efecto de este reporte se presenta como evidencia datos e imágenes del sitio de la revista donde fue publicado <http://www.irmbrijournal.com/papers/1475135697.pdf>.

Adicionalmente fue anexado como evidencia para obtener:

1. Perfil de Profesor Deseable ante PRODEP (renovación 2017)
2. Reingreso al Sistema Nacional de Investigadores ante CONACYT (2017)

El impacto como investigador es obtener el reconocimiento de la labor investigadora en procesos de acreditación, que conllevan el cumplimiento de los criterios de calidad de los organismos ya mencionados.

Para la institución (UACH-FCA), que se verá beneficiada igualmente por los recursos económicos derivados de los reconocimientos de calidad investigadora, obtenidos por el número de publicaciones en revista de impacto.

Agradecemos su valioso apoyo,



**Dra. Laura Cristina Piñón Howlet**  
**Autor principal**  
**No. Empleado 8409**  
**Profesor de Tiempo Completo de la**  
**Facultad de Contaduría y Administración**  
**de la Universidad Autónoma de Chihuahua**



Chihuahua, Chih., a 14 de marzo 2018

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE  
CHIHUAHUA

**M.P.A. EDEL MONTOYA MALDONADO:  
REPRESENTANTE INSTITUCIONAL ANTE PRODEP  
PRESENTE.-**

Por medio de la presente informo a usted que el apoyo económico que recibí para la publicación del artículo "Efectos en el rendimiento físico en la ingesta de suplementos con carbohidratos y proteína durante el ejercicio: revisión sistemática" cuyos autores somos los maestros Ever Espino González, María de Jesús Muñoz Daw y Ramón Candia Lujan de la Facultad de Ciencias de la Cultura Física de la Universidad Autónoma de Chihuahua, fue publicado en la revista Nutrición Hospitalaria el 2015 en el volumen 32 número 5 de las páginas 1926-1935 (adjunto copia).  
A la fecha ha sido leído por 411 investigadores y citado en los siguientes 2 artículos

- 1) Análisis nutricional en atletas de fondo y medio fondo durante una temporada deportiva, por los autores Francisco Javier Grijota Pérez, Gema Barrientos Vicho, Analía Casado Dorado, Diego Muñoz Marín, María Concepción Robles Gil y Marcos Maynar Mariño. De la Facultad de Ciencias de la Actividad Física y del Deporte. Universidad de Extremadura. Cáceres. Y la Facultad de la Educación. Universidad Pontificia de Salamanca. En la Revista de Nutrición Hospitalaria del 2016 33(5): 1136-1141.
- 2) Metabolic Responses to Sago and Soy Supplementations during Endurance Cycling Performance in the Heat por los autores Daniel Tarmas Asok Kumar Ghosh, Chee Keong Chen del Department of Physical de la Universiti Sains Malaysia publicado en la revista International Journal of Applied Exercise Physiology volume 5 Número 1 del 2017.

Esta información la hemos obtenido del perfil de los autores en Google Académico y ResearchGate

Por lo que agradezco sinceramente el apoyo brindado para este trabajo, que se traduce en beneficio de la Universidad Autónoma de Chihuahua

ATENTAMENTE

"Educar para la vida, a través del movimiento"

M.C. María de Jesús Muñoz Daw

Catedrática de la FCCF

RECIBIDO

14 MAR 2018

DEPTO. DE GESTORÍA Y  
FORTALECIMIENTO  
INSTITUCIONAL

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA CULTURA FÍSICA



Revisión

## Efectos en el rendimiento físico de la ingesta de suplementos con carbohidratos y proteína durante el ejercicio: revisión sistemática

Ever Espino González, María de Jesús Muñoz Daw y Ramón Candia Lujan

Laboratorios de Investigación, Facultad de Ciencias de la Cultura Física, Universidad Autónoma de Chihuahua, Mexico.

Resumen

**Introducción:** las bebidas deportivas ayudan a mejorar el rendimiento físico de forma significativa debido a su aporte de carbohidratos, electrolitos y agua. Sin embargo, en las últimas décadas se ha encontrado que ingerir una bebida deportiva con proteína durante el ejercicio mejora el rendimiento físico, produce menores pérdidas de peso corporal inducidas por la deshidratación y ayuda a disminuir el daño muscular postejercicio en comparación con una bebida únicamente con carbohidratos y electrolitos.

**Objetivo:** analizar los principales estudios sobre la efectividad de la ingesta de un suplemento con carbohidratos, proteína y electrolitos durante el ejercicio.

**Método:** se realizó una búsqueda automatizada en Google académico, EBSCO, PubMed y Scopus, utilizando las palabras clave: *Carbohydrate-protein and performance* y *Added protein and sports drink*. Se evaluó la calidad metodológica de los ensayos y se tomó en cuenta que la ingesta del suplemento fuera durante el ejercicio.

**Resultados:** de los veinte artículos que se incluyeron, trece obtuvieron resultados en los que la ingesta de una bebida deportiva con proteína generó mejoras significativas en el rendimiento físico en comparación con una bebida únicamente con carbohidratos y electrolitos, o un placebo.

**Discusión:** aumentar el contenido calórico de las bebidas deportivas al agregar proteína es probablemente una estrategia más efectiva en comparación con disminuir el contenido de carbohidratos para igualar la cantidad de energía.

**Conclusiones:** el consumo de proteína durante el ejercicio posiblemente sirva como una ayuda ergogénica, retardando el tiempo hasta llegar al agotamiento. Sin embargo, hace falta más evidencia que así lo demuestre.

(Nutr Hosp. 2015;32:1926-1935)

DOI:10.3305/nh.2015.32.5.9645

Palabras clave: *Rendimiento físico. Hidratación. Bebidas deportivas.*

### EFFECTS OF INGESTING CARBOHYDRATE-PROTEIN SUPPLEMENTS DURING EXERCISE ON ENDURANCE PERFORMANCE: A SYSTEMATIC REVIEW

Abstract

**Introduction:** sports drinks aid to improve physical performance significantly because of its content of carbohydrate, electrolytes and water. However, in recent decades it has been found that drinking a sports drink with protein during exercise improves endurance performance, produces lower losses of body weight induced by dehydration and helps to reduce post-exercise muscle damage compared to a drink only with carbohydrate and electrolytes.

**Purpose:** the aim of this study was to analyze the main studies about the effectiveness of a supplement intake with carbohydrate, protein and electrolytes during exercise.

**Methods:** studies were identified by searching Google Scholar, EBSCO, PubMed and Scopus using the following search terms: *Carbohydrate-protein and performance* and *Added protein and sports drink*. The methodological quality of the trials was evaluated, and it was considered that the intake of the supplement has been during exercise.

**Results:** twenty articles were included in this study. Thirteen obtained results were the intake of sports drinks with protein produced significant improvements on endurance performance compared to beverages with carbohydrates and electrolytes alone, or a placebo.

**Discussion:** increase the caloric content of sports drinks to add protein was probably a better strategy than reduce the carbohydrate content to match the amount of calories.

**Conclusions:** protein intake during exercise demonstrated an ergogenic effect on endurance performance when assessed by time to exhaustion. However, we need more evidence to prove this possible ergogenic effect of protein.

(Nutr Hosp. 2015;32:1926-1935)

DOI:10.3305/nh.2015.32.5.9645

Key words: *Physical performance. Hydration. Sports drinks.*

**Correspondencia:** Ever Espino González.  
Ciudad Delicias Chihuahua. Sector poniente. Calle 4ta pte # 2103.  
E-mail: everlpm\_esp@hotmail.com

Recibido: 15-VII-2015.  
Aceptado: 17-VIII-2015.

## Abreviaturas

VO<sub>2</sub>max: Consumo máximo de oxígeno  
CHO+P: Carbohidratos+proteína  
CHO: Carbohidratos  
BCAAs: Aminoácidos ramificados (Branched-Chain Amino Acids)  
PLA: Placebo  
CHO+CHO: Doble contenido de carbohidratos  
P: Proteína  
MD+F: Maltodextrina+Fructosa  
ND: Ninguna diferencia significativa

## Introducción

A lo largo de la historia se han hecho toda clase de afirmaciones, en las cuales se le atribuyen cualidades especiales a distintos productos nutricionales. Mientras algunas afirmaciones no han sido comprobadas, otras demuestran buenos resultados no solamente como fuentes de nutrientes importantes, sino como recursos ergogénicos, logrando mejorar considerablemente el rendimiento físico<sup>1</sup>.

Entre estos productos sumamente estudiados, se encuentran las bebidas deportivas, las cuales se han puesto a prueba bajo distintas circunstancias, por lo que se sabe ayudan a mejorar el rendimiento físico de forma significativa debido a su aporte de carbohidratos, electrolitos y agua<sup>1,2,3</sup>. Las conclusiones de estas investigaciones se han derivado principalmente de estudios dirigidos por el fisiólogo David Costill en los años 80's<sup>4,5</sup>, las cuales han ido aumentando por sus estudiantes y otros investigadores.

Las pruebas físicas que implican una intensidad mayor al 65% del VO<sub>2max</sub> y una larga duración se caracterizan por un descenso constante y paulatino de las concentraciones de glucógeno en los músculos activos. Por tanto, el propósito de la ingesta de carbohidratos durante el ejercicio es proporcionar una fuente fácilmente disponible de combustible exógeno, ya que los almacenes endógenos de glucógeno se agotan<sup>6</sup>.

Actualmente hay un interés por agregar pequeñas cantidades de proteína a las bebidas deportivas que contienen carbohidratos y electrolitos con el objetivo de mejorar el rendimiento físico. Algunos estudios obtienen resultados que así lo demuestran, mientras que otros no encuentran ninguna diferencia significativa. Esta posible ayuda ergogénica que se tribuye a las proteínas aun esta en controversia.

Se ha encontrado que ingerir una bebida deportiva con proteína durante el ejercicio mejora el rendimiento físico en pruebas donde se establece cierta distancia o tiempo a recorrer<sup>7,8</sup>, pruebas realizadas hasta el agotamiento<sup>9</sup>, pruebas en intervalos<sup>10</sup> y pruebas realizadas en un segundo periodo durante el mismo día<sup>11</sup>. También se le atribuye que mejora los niveles de insulina y glucosa en sangre durante el ejercicio en comparación con un placebo<sup>12</sup>, produce menores pérdidas de

peso corporal inducidas por la deshidratación en el entrenamiento<sup>13</sup> y ayuda a disminuir el daño muscular post-ejercicio<sup>14,11</sup>.

Si bien, no siempre se han obtenido resultados que demuestren el posible efecto ergogénico de las proteínas en las bebidas deportivas. Un estudio realizado por Naclerio y cols. concluyó que la ingesta de un suplemento con carbohidratos y proteínas durante y después del ejercicio no genera mejoras en el rendimiento físico<sup>15</sup>. Otros autores han encontrado resultados similares<sup>16,17,18</sup>.

A la vista de los referentes anteriores, surge la siguiente pregunta:

¿Consumir una bebida deportiva con carbohidratos y proteínas durante el ejercicio genera mejoras en el rendimiento físico en comparación con un placebo o una bebida únicamente con carbohidratos?

## Objetivo

Revisar los principales estudios sobre la efectividad de la ingesta de un suplemento con carbohidratos, proteínas y electrolitos durante el ejercicio.

## Metodología

### Diseño

Revisión sistemática de los resultados de artículos científicos relacionados con la ingesta de bebidas deportivas con proteína y sus posibles efectos en el rendimiento físico.

### Estrategia de búsqueda

Se realizó una revisión de la literatura para identificar los posibles estudios que pudieran contestar la pregunta de investigación. La búsqueda automatizada se llevó a cabo en el buscador Google académico y en las bases de datos EBSCO (Academic Search Complete, Fuente Academica y MedicLatina), PubMed y Scopus. Dicha revisión se efectuó entre los días 16 de febrero y 16 de marzo de 2015.

Los descriptores o palabras clave de búsqueda que se utilizaron fueron los siguientes: Carbohydrate-protein and performance y Added protein and sports drink.

### Selección de estudios: criterios de inclusión y exclusión

Fueron incluidos únicamente artículos originales, bajo la condición de que midieran el rendimiento físico (ya sea a través de variables fisiológicas o mediante pruebas contra reloj o hasta el agotamiento). También se tomó en cuenta que la ingesta del suplemento fuera durante el ejercicio y no únicamente antes o después

del mismo. Estos criterios fueron requeridos para asegurar el análisis de la relación entre la ingesta del suplemento y el rendimiento físico.

Se excluyeron los estudios que no contestaran la pregunta de investigación, es decir, la ingesta de proteína estaba enfocada a otros objetivos, y no a mejorar el rendimiento deportivo.

### Evaluación de la calidad metodológica

Los artículos con título inapropiado fueron excluidos de la búsqueda en las bases de datos, es decir, estaban enfocados a otros temas fuera del interés de este estudio. Después de esto, se leyó el resumen de los artículos para verificar que cumplieran con los criterios de inclusión. Posteriormente fueron eliminados aquellos ensayos que estaban repetidos en las distintas bases de datos, dando como resultado los ensayos que fueran relevantes para la revisión y el análisis completo. Para ello fue preciso considerar la utilidad y la relevancia del tema estudiado. Se excluyeron aquellos artículos que no mostraran claramente la composición de las bebidas y/o las pruebas bajo las cuales fueron probadas. Se determinó la calidad de cada ensayo utilizando la lista Delphi desarrollada por Verhagen<sup>19</sup>, la cual estuvo relacionada con el diseño y los procedimientos de medición de las variables y los métodos de análisis (Tabla I). Se consideró que el estudio tenía validez interna cuando medía aquello para lo que había sido diseñado, dicha validez estuvo relacionada con el diseño y procedimiento de medición de las variables y los métodos de análisis.

### Resultados

Del total de artículos identificados se incluyeron 20 estudios en la presente revisión. El proceso por el cual se seleccionaron se muestra en la Figura 1. En la Tabla I se muestra la puntuación obtenida para la calidad metodológica con la lista Delphi para cada artículo, y en la Tabla II se expone la revisión de los ensayos con las principales características. Del total de artículos que se incluyeron, trece obtuvieron resultados en donde la ingesta de una bebida deportiva con proteína generó mejoras significativas en el rendimiento físico en comparación con una bebida únicamente con carbohidratos y electrolitos, o un placebo.

Algunos estudios no se tomaron en cuenta para el análisis, ya que estaban principalmente enfocados a efectos distintos a los de nuestro interés: analizar marcadores de control metabólico en relación al glucógeno muscular<sup>20</sup>, recuperación<sup>21</sup> y daño muscular post-ejercicio<sup>16</sup>.

La variedad de resultados en los estudios incluidos en la revisión puede estar influenciada por las diferencias metodológicas, incluidas la cantidad y el tipo de carbohidratos o proteína utilizada, el tiempo de admi-

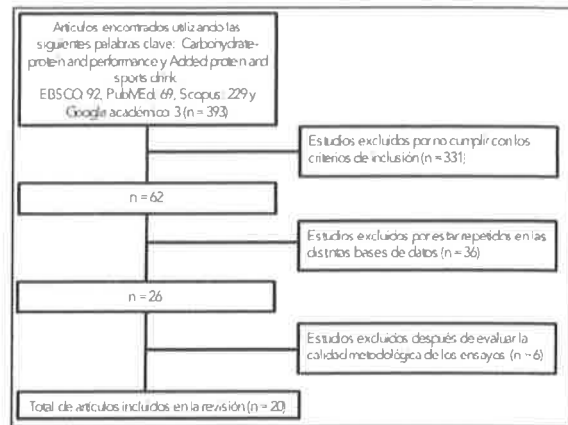


Fig. 1. — Diagrama de flujo de los artículos incluidos en el estudio.

nistración de la bebida y el protocolo de ejercicio que utilizaron para evaluar el rendimiento.

### Discusión

#### Sujetos

De los estudios seleccionados, catorce se realizaron en ciclistas<sup>12,22,23,24,25,26,13,9,11,27,28,29,30,17</sup>, de los cuales nueve mostraron mejoras significativas en el rendimiento físico en comparación con una bebida únicamente con carbohidratos<sup>12,22,23,24,25,26,13,9,11</sup>. Cuatro estudios se realizaron en triatletas y solo se observaron mejoras significativas en el rendimiento en dos de estos casos<sup>26,9</sup>. La disciplina deportiva que los sujetos practican parece no influir en este tipo de estudios de intervención nutricional, aunque es necesario aumentar el número de investigaciones en donde los sujetos practiquen diferentes disciplinas deportivas.

Pocos estudios han investigado si existe una diferencia entre géneros sobre los efectos ergogénicos que se le atribuyen a la ingesta de bebidas deportivas con proteína. En un estudio dirigido por Saunders, trece ciclistas (8 hombres y 5 mujeres) completaron dos pruebas en bicicleta hasta llegar a la fatiga en donde los sujetos consumieron un gel de carbohidratos y proteína: CHO+P (0.15 g y 0.038 g•kg MC-1) y un gel de carbohidratos: CHO (0.15 g•kg MC-1). Los resultados mostraron diferencias entre géneros, sin embargo, dichas diferencias no fueron significativas<sup>23</sup>. En los estudios incluidos en esta revisión no se reportaron comportamientos diferentes entre géneros en ninguno de los estudios realizados con hombres y mujeres<sup>23,29,26,13,8</sup>.

#### Composición del suplemento

Del total de ensayos seleccionados, siete compararon las bebidas utilizando el mismo o un similar con-

**Tabla I**  
Lista de Delphi para evaluar la calidad metodológica de los estudios

Referencia	Aleatoriedad	Asignación del tratamiento oculto	Características basales similares	Criterios de selección, elegibilidad	Evaluador ciego	Administrador del tratamiento ciego	Ciego del paciente	Media ± Desviación Estándar	Intención de tratar	Intención de total
Ivy, et al. (2003)	x	/	x	x	x	/	x	x	x	7
Saunders, et al. (2004)	x	/	x	x	x	x	x	x	x	8
Van Essen, et al. (2006)	x	x	x	x	x	x	x	x	x	9
Saunders, et al. (2007)	x	x	x	x	x	x	x	x	x	9
Valentine, et al. (2008)	/	x	/	x	x	x	x	x	x	7
Saunders, et al. (2009)	x	/	x	x	x	/	x	x	x	7
Toone, et al. (2010)	x	x	x	/	x	x	x	x	x	8
Martínez Lagunas, et al. (2010)	x	/	x	x	x	x	x	x	x	8
Ferguson Stegall, et al. (2010)	x	/	x	x	x	x	x	x	x	8
Breen, et al. (2010)	/	/	x	x	x	x	x	x	x	7
Gaines, et al. (2010)	x	/	x	x	x	/	x	x	x	7
Alghannam (2011)	x	/	x	x	/	/	x	x	x	6
Cathcart, et al. (2011)	x	x	x	x	x	/	x	x	x	8
McCleave, et al. (2011)	x	/	x	/	x	x	x	x	x	7
Seifert, et al. (2012)	/	/	x	x	/	/	x	x	x	5
Roberts, et al. (2012)	x	/	x	x	x	/	x	x	x	7
Highton, et al. (2013)	x	/	/	/	x	/	x	x	x	5
Coletta, et al. (2013)	x	x	/	x	/	/	/	x	x	5
Tarpey, et al. (2013)	x	/	/	x	x	/	x	x	x	6
Hall, et al. (2013)	x	x	x	x	x	x	x	x	x	9

/ = no, x = si



tenido calórico (estudios isocalóricos)<sup>24,28,29,31,17,32,10</sup> y solo dos encontraron diferencias significativas en las pruebas que evaluaron el rendimiento físico<sup>32,10</sup>. Diez estudios utilizaron un contenido calórico mayor en las bebidas deportivas con proteína<sup>27,24,30,18,12,22,23,25,13,7</sup> de los cuales uno obtuvo resultados iguales<sup>7</sup> y cinco obtuvieron mejores resultados en las pruebas contra reloj o hasta llegar a la fatiga mediante la ingesta de las bebidas deportivas con proteína en comparación con las bebidas únicamente de carbohidratos<sup>12,22,23,25,13</sup>. En base a estos resultados, aumentar el contenido calórico de las bebidas deportivas al agregar proteína es probablemente una estrategia más efectiva en comparación con disminuir el contenido de carbohidratos para equiparar el contenido energético al momento de agregar proteína a las bebidas.

En un estudio dirigido por Valentine<sup>24</sup>, se realizaron cuatro pruebas hasta llegar a la fatiga. Los participantes consumieron 250 mL de un placebo, una bebida con 7.75% de carbohidratos, una bebida con 9.69% de carbohidratos o una bebida con 7.75% de carbohidratos y 1.94% de proteína cada 15 min. El rendimiento físico aumentó un 7.4% bajo la ingesta de la bebida con proteína en relación con la bebida que tenía la misma cantidad de carbohidratos, y solo un 4% en comparación con la bebida isocalórica. Estos hallazgos sugieren que al menos algunas de las mejoras en el rendimiento físico reportadas en las bebidas con proteína podrían estar relacionadas con las diferencias en el contenido energético entre los tratamientos.

Stearns et al. realizaron una revisión sistemática con meta análisis con el objetivo de examinar la influencia de la ingesta de proteína durante el ejercicio en el rendimiento físico. Parte de sus resultados fue que los estudios isocalóricos no revelaron ningún aumento significativo en el desempeño físico, solo cuatro de ocho ensayos encontraron mejoras significativas<sup>33</sup>.

Otro estudio de revisión realizado por Saunders coincidió con los resultados anteriores, reportó que estudios previos obtuvieron mejoras en el rendimiento cuando los sujetos consumieron una bebida de CHO+P con un mayor contenido calórico en comparación con una bebida de CHO, por lo que concluyeron que aumentar el contenido energético de las bebidas deportivas al agregar proteína es una buena estrategia para mejorar rendimiento físico<sup>34</sup>.

Son pocos los estudios que reportan el tipo de proteína que usaron. Saunders reportó que existe una controversia entre los estudios que utilizaron aminoácidos ramificados (BCAAs), debido a que obtuvieron resultados diferentes. Nuevamente, Saunders llevó a cabo un estudio en el que utilizó proteína hidrolizada de caseína en la bebida de CHO+P. Trece ciclistas realizaron dos pruebas en cicloergómetro contra reloj de 60 km para evaluar el rendimiento físico. Cada prueba consistió en tres lapsos de 20 km. En los últimos 20 km los sujetos obtuvieron mejores tiempos cuando consumieron la bebida de CHO+P (CHO 45.0 ± 1.6 min vs CHO+P 44.3 ± 1.6 min,  $p < 0.05$ )<sup>25</sup>. Dos recientes

estudios obtuvieron mejoras significativas en el rendimiento físico utilizando proteína de suero<sup>10,8</sup>. Sin embargo, un tercer estudio obtuvo resultados contrarios<sup>35</sup>.

Actualmente se desconoce el tipo de proteína óptima para consumir durante el ejercicio con el objetivo de mejorar el desempeño físico. Además, no está claro que cantidad de proteína provoca la mayor respuesta. Contestar estas preguntas es una tarea difícil, ya que probablemente la proteína interactúa con otros aspectos como el contenido de carbohidratos de la bebida, el volumen total de bebida que se ingiere, el tipo de proteína, la osmolalidad y las tolerancias individuales hacia el suplemento.

En cuanto al tipo de carbohidratos, se ha encontrado que cuando los sujetos reciben mayores cantidades de fructosa obtienen mejoras significativas en el rendimiento físico. El posible mecanismo por el cual la ingesta de fructosa es efectiva para reponer el glucógeno muscular es su influencia sobre los lípidos plasmáticos, ya que permite aumentar el uso de las grasas. De esta forma, el azúcar (sacarosa) se convierte en un buen suplemento al suministrar tanto fructosa como glucosa<sup>6</sup>.

De los estudios incluidos, algunos optaron por utilizar fructosa y polímeros de glucosa (maltodextrina)<sup>9,17</sup>, dichos estudios obtuvieron resultados diferentes en cuanto al rendimiento físico. Fue difícil establecer conclusiones acerca del tipo de carbohidratos, debido a que muchos estudios no lo mencionaron, por lo que se sugiere seguir investigando en esta área.

### *Tipo de ejercicio*

Del total de estudios incluidos en la revisión, la mayoría optó por utilizar pruebas hasta llegar a la fatiga o pruebas contra reloj. Solo un estudio realizó la intervención durante una competencia<sup>13</sup>, TransAlp Challenge mountain bike race, la cual es considerada una de las carreras más difíciles del mundo. En este estudio, 28 ciclistas de montaña cruzaron los Alpes en 8 semanas. Los participantes fueron asignados aleatoriamente a cualquiera de los dos grupos; (CHO; 76 g L-1) o (CHO+P; 72 g L-1 y 18 g L-1). Los resultados mostraron que el grupo CHO+P completo los 8 días/etapas significativamente más rápido que el grupo CHO (CHO+P 2,277 ± 127 min vs CHO 2,592 ± 68 min,  $p = 0.02$ ). Además, obtuvieron mejores resultados en la prevención de pérdida de masa corporal y en la mejora de la capacidad de termorregulación.

Ocho estudios utilizaron pruebas hasta llegar al agotamiento para evaluar el rendimiento físico<sup>12,22,24,26,32,9,29,31</sup>, de los cuales seis mostraron mejoras significativas en comparación con una bebida únicamente con carbohidratos o un placebo<sup>12,22,24,26,32,9</sup>. Resultados similares se obtuvieron en los ensayos donde los sujetos realizaron ejercicio intervalo. En un total de seis estudios<sup>23,32,9,10,11,29</sup>, solo uno no obtuvo diferencias significativas en el rendimiento físico<sup>29</sup>.

**Tabla II**  
Estudios revisados sobre la efectividad de la ingesta de bebidas deportivas con proteína

Referencia	Muestra	Volumen y composición de la bebida del grupo control	Volumen y composición de la bebida con proteína	Tiempo de administración	Protocolo del ejercicio	Mejora sobre el placebo o CHO	Puntuación Delphi
Ivy, Res, Sprague, & Widzer (2003)	9 ciclistas entrenados	200 mL. PLA. (CHO; 7.75%).	200 mL. (CHO+P; 7.75% y 1.94%).	Cada 20 min	3 h en bicicleta a una intensidad entre el 45 y 75% del VO[sub 2]max], seguido de una prueba hasta la fatiga al 85% del VO[sub 2]max]	(CHO 19.7 ± 4.6 min vs CHO+P 26.9 ± 4.5 min, p < 0.05)	7
Saunders, Kane, & Todd (2004)	15 ciclistas	1.8 mL·kg MC. (CHO; 7.3%).	1.8 mL·kg MC. (CHO+P; 7.3% y 1.8%).	Cada 15 min y después del ejercicio	Una prueba en cicloergómetro hasta la fatiga al 75% del V'O2pico. 12-15 h después, una segunda prueba hasta la fatiga al 85% del V'O2pico	Prueba 1 (CHO 82.3 ± 32.6 min vs CHO+P 106.3 ± 45.2 min, P < 0.05). Prueba 2 (CHO 31.2 ± 8.7 min vs CHO+P 43.6 ± 12.5 min) (40%)	8
Van Essen & Gibala (2006)	10 ciclistas entrenados (hombres)	250 mL. PLA. (CHO; 6%).	250 mL. (CHO+P; 6% y 2%).	Cada 15 min y después del ejercicio	3 pruebas en bicicleta contra reloj de 80 km separadas por 7 días	ND (P = 0.92)	9
Saunders, Luden, & Herrick (2007)	13 ciclistas (5 mujeres y 8 hombres)	(CHO gel; 0.15 g·kg MC-1).	(CHO+P gel; 0.15 g y 0.038 g·kg MC-1).	Cada 15 min	2 pruebas hasta la fatiga en intervalos de 15 min al 75% del V'O2pico	(CHO gel 102.8 ± 25.0 min vs CHO+P gel 116.6 ± 28.5 min, p < 0.05) (13%)	9
Valentine, Saunders, Todd, & St. Laurent (2008)	12 ciclistas entrenados	250 mL. PLA. (CHO; 7.75%). (CHO+CHO; 9.69%).	250 mL. (CHO+P; 7.75% y 1.94%).	Cada 15 min	4 pruebas hasta la fatiga al 75% del VO2pico	(CHO+P 126.2 ± 25.4 min vs PLA 107.1 ± 30.3 min, p < .05). ND entre CHO+P, CHO+CHO y CHO	7
Saunders, Moore, Luden, Pratt, & Kies (2009)	13 ciclistas recreativos (hombres)	200 mL. (CHO; 6%).	200 mL. (CHO+P; 6% y 14.4 g)	Cada 5 km	2 pruebas en cicloergómetro contra reloj de 60 km separadas por 7-10 días. Cada prueba consistió en 3 lapsos de 20 km	Últimos 20 km (CHO 45.0 ± 1.6 min vs CHO+P 44.3 ± 1.6 min, p < 0.05). Últimos 5 km (CHO 16.9 ± 0.6 min vs CHO+P 16.5 ± 0.6 min, p < 0.05)	7
Toone & Betts (2010)	12 ciclistas y triatletas entrenados	22 kJ/kg MC. (CHO; 9%).	22 kJ/kg MC. (CHO+P; 6.8% y 2.2%)	Al comienzo del ejercicio, y cada 15 min	45 min en cicloergómetro a una intensidad variable, seguido de una prueba contra reloj de 6 km	ND (p = 0.048)	8

**Tabla II (cont.)**

*Estudios revisados sobre la efectividad de la ingesta de bebidas deportivas con proteína*

Referencia	Muestra	Volumen y composición de la bebida del grupo control	Volumen y composición de la bebida con proteína	Tiempo de administración	Protocolo del ejercicio	Mejora sobre el placebo o CHO	Puntuación Delphi
<i>Martínez Lagunas, Ding, Bernard, Wang, &amp; Ivy (2010)</i>	12 ciclistas entrenados (5 mujeres y 7 hombres)	255.4±9.1 mL. PLA. (CHO; 6%).	255.4±9.1 mL. (CHO+P; 4.5% y 1.15%). (CHO+P; 3% y 0.75%).	Cada 20 min	24 min en bicicleta al 55% del VO <sub>2</sub> max. 12 intervalos de 8 min entre el 55 y 75% del VO <sub>2</sub> max. 10 intervalos de 3 min entre el 55 y 75% del VO <sub>2</sub> max. Una prueba hasta a fatiga al 80% del VO <sub>2</sub> max.	ND (p = 0.073)	8
<i>Ferguson Stegall, y otros (2010)</i>	15 ciclistas y triatletas entrenados (7 mujeres y 8 hombres)	275 mL. (CHO; 6%).	275 mL. (CHO+P; 3% y 1.2%).	Al comienzo del ejercicio, y cada 20 min	2 pruebas de: 3 h en cicloergómetro a intensidades entre el 45 y 70% del VO <sub>2</sub> max, seguido de una prueba hasta la fatiga al 74–85% del VO <sub>2</sub> max.	(CHO 35.47 ± 5.94 min vs CHO+P 45.64 ± 7.38 min, p = 0.006)	8
<i>Breen, Tipton, &amp; Jeukendrup (2010)</i>	12 ciclistas entrenados	270 mL. (CHO; 6%).	270 mL. (CHO+P; 6% y 1.8%).	Cada 15 min en la primer prueba y ad libitum durante la prueba de 60 min	120 min en cicloergómetro al 55% del VO <sub>2</sub> max, seguido de una prueba de 60 min para calcular el trabajo total realizado	ND (p = 0.81)	7
<i>Gaines &amp; Olson (2010)</i>	8 reclutas de las Escuadras de Rescate de la Fuerza Aérea	600 mL. PLA. (CHO; 8.9%).	600 mL. (CHO+P; 7.22% y 1.81%).	Al finalizar cada evento, un total de 3L (5 dosis)	Una prueba de natación de 2000 m, actividades acuáticas, calistenia, una carrera de 6,4 km y una carrera de 400 m hasta el agotamiento.	ND (p > 0.05)	7
<i>Alghannam (2011)</i>	6 futbolistas amateurs (hombres)	Ad libitum. PLA. (CHO; 6.9%).	Ad libitum. (CHO+P; 4.8% y 2.1%).	Antes y durante el ejercicio	75 min de ejercicio intermitente, seguido de una prueba hasta la fatiga al 80% del VO <sub>2</sub> pico	(CHO 16.49 ± 3.25 min vs CHO+P 23.02 ± 5.27 min, p < 0.05)	6
<i>Cathcart, Murgatroyd, McNab, Whyte, &amp; Easton (2011)</i>	28 ciclistas de montaña entrenados (4 mujeres y 24 hombres)	Ad libitum. (CHO; 76 g L <sup>-1</sup> ).	Ad libitum. (CHO+P; 72 g L <sup>-1</sup> y 18 g L <sup>-1</sup> ).	Durante la competición	TransAlp Challenge mountain bike race. Cruzar los Alpes en 8 días consecutivos	(CHO 2,592 ± 68 min vs CHO+P 2,277 ± 127 min, p = 0.02)	8
<i>McCleave, y otros (2011)</i>	14 ciclistas y triatletas (mujeres)	275 mL. (CHO; 6%).	275 mL. (CHO+P; 3% y 1.2%).	Al comienzo del ejercicio, y cada 20 min	2 pruebas de: varios intervalos al 45 y 70% del VO <sub>2</sub> max, seguido de una prueba hasta la fatiga al umbral ventilatorio de cada sujeto	(CHO 42.36 ± 6.21 min vs CHO+P 49.94 ± 7.01 min, p < 0.05)	7

Cuando a los sujetos fueron evaluados utilizando pruebas contra reloj<sup>25,8,11,27,28,18,17</sup>, menos de la mitad de los estudios encontraron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos<sup>25,8,11</sup>.

Los hallazgos anteriores coinciden con los resultados del meta análisis realizado por Stearns et al. Cuyo análisis estadístico no mostró efectos significativos entre las intervenciones donde los sujetos realizaron pruebas contra reloj para evaluar el rendimiento físico. Mientras tanto, se obtuvieron mejoras significativas en aquellos estudios que utilizaron pruebas hasta la fatiga<sup>33</sup>. Dicho estudio concluyó que la ingesta de una bebida de carbohidratos y proteína genera beneficios en el rendimiento físico de un 9% en comparación con un placebo o una bebida únicamente con carbohidratos

## Conclusiones

En base a los resultados anteriores, el consumo de proteína durante el ejercicio posiblemente sirva como una ayuda ergogénica, retardando el tiempo hasta llegar al agotamiento en aquellas pruebas que requieren de una gran resistencia física. Sin embargo, hace falta más evidencia que así lo demuestre antes de llegar a una conclusión clara. Este posible efecto positivo de la ingesta de proteína en el rendimiento físico probablemente se deba a la energía adicional de proteína en las bebidas deportivas.

## Referencias

1. Aragón LF. La Leche... ¿Bebida Deportiva? Kerwa 2009.
2. Rollo I, Williams C. Influence of ingesting a carbohydrate-electrolyte solution before and during a 1-hr running performance test. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2009; 19(6): 645-58.
3. Jeukendrup AF. Carbohydrate Intake During Exercise and Performance. *Nutrition* 2004; 20(7/8): 669-677.
4. Fielding RA, Costill DL, Fink WJ, King DS, Hargreaves M, Kovaleski JE. Effect of carbohydrate feeding frequencies and dosage on muscle glycogen use during exercise. *Fielding, Med Sci Sports Exerc* 1985; 17(4): 472-6.
5. Neuffer PD, Costill DL, Flynn MG, Kirwan JP, Mitchell JB, Howard J. Improvements in exercise performance: effects of carbohydrate feedings and diet. *J Appl Physiol* 1987; 62(3): 983-8.
6. Peinado AB, Rojo-Tirado MA, Benito PJ. El azúcar y el ejercicio físico: su importancia en los deportistas. *Nutr Hosp* 2013; 28(Supl. 4): 48-56.
7. Roberts JD, Tarpey MD, Kass LS, Roberts MG. An investigative study into the influence of a commercially available carbohydrate-protein-electrolyte beverage on short term repeated exercise performance. *J Int Soc Sports Nutr* 2012; 9(1): 5-16.
8. Seifert JG, Kipp RW, Bacharach DW. The effects of a carbohydrate-protein gel supplement on alpine slalom ski performance. *J Sports Sci Med* 2012; 11(3): 537-541.
9. McCleave EL, Ferguson-Stegall L, Ding Z, Doerner III PG, Wang B, Kammer LM, et al. A low carbohydrate-protein supplement improves endurance performance in female athletes. *J Strength Cond Res* 2011; 25(4): 879-888.
10. Highton J, Twist C, Lamb K, Nicholas C. Carbohydrate-protein coingestion improves multiple-sprint running performance. *J Sports Sci* 2013; 31(4): 361-369.

11. Hall AH, Leveritt MD, Ahuja KD, Shing CM. Coingestion of carbohydrate and protein during training reduces training stress and enhances subsequent exercise performance. *Appl Physiol Nutr Metab* 2013; 38(6): 597-604.
12. Ivy JJ, Res PT, Sprague RC, Widzer MO. Effect of a Carbohydrate-Protein Supplement on Endurance Performance During Exercise of Varying Intensity. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2003; 13(3): 382-395.
13. Cathcart AJ, Murgatroyd SR, McNab A, Whyte LJ, Easton C. Combined carbohydrate-protein supplementation improves competitive endurance exercise performance in the heat. *Eur J Appl Physiol* 2011; 111(9): 2051-2061.
14. Seifert JG, Kipp RW, Amann M, Gazal O. Muscle damage, fluid ingestion, and energy supplementation during recreational alpine skiing. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2005; 15(5): 528-36.
15. Naclerio F, Larumbe-Zabala E, Cooper R, Jimenez A, Goss-Sampson M. Effect of a carbohydrate-protein multi-ingredient supplement on intermittent sprint performance and muscle damage in recreational athletes. *Appl Physiol Nutr Metab* 2014; 39(10): 1151-1158.
16. Greer BK, Price A, Jones B. Timing Influence of Carbohydrate-Protein Ingestion on Muscle Soreness and Next-Day Running Performance. *J Diet Suppl* 2014; 11(2): 166-174.
17. Tarpey MD, Roberts JD, Kass LS, Tarpey RJ, Roberts MG. The ingestion of protein with a maltodextrin and fructose beverage on substrate utilisation and exercise performance. *Appl Physiol Nutr Metab* 2013; 38(12): 1245-1253.
18. Colletta A, Thompson DL, Raynor HA. The influence of commercially-available carbohydrate and carbohydrate-protein supplements on endurance running performance in recreational athletes during a field trial. *J Int Soc Sports Nutr* 2013; 10(1): 17-24.
19. Cermak NM, Solheim AS, Gardner MS, Tarnopolsky MA, Gibala MJ. Muscle Metabolism during Exercise with Carbohydrate or Protein-Carbohydrate Ingestion. *Med Sci Sports Exerc* 2009; 41(12): 2158-2164.
20. Cermak NM, Solheim AS, Gardner MS, Tarnopolsky MA, Gibala MJ. Muscle Metabolism during Exercise with Carbohydrate or Protein-Carbohydrate Ingestion. *Med Sci Sports Exerc* 2009; 41(12): 2158-2164.
21. Millard-Stafford ML, Gordon W, Leah T, Doyle JA, Snow TK, Hitchcock K. Recovery from Run Training: Efficacy of a Carbohydrate-Protein Beverage? *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2005; 15(6): 610-15.
22. Saunders MJ, Kane MD, Todd MK. Effects of a Carbohydrate-Protein Beverage on Cycling Endurance and Muscle Damage. *Med Sci Sports Exerc* 2004; 36(7): 1233-8.
23. Saunders MJ, Luden ND, Herrick JE. Consumption of an Oral Carbohydrate-Protein Gel Improves Cycling Endurance and Prevents Postexercise Muscle Damage. *J Strength Cond Res* 2007; 21(3): 678-684.
24. Valentine JR, Saunders MJ, Todd MK, Laurent TG. Influence of Carbohydrate-Protein Beverage on Cycling Endurance and Indices of Muscle Disruption. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2008; 18(4): 363-378.
25. Saunders MJ, Moore RW, Kies AK, Luden ND, Pratt CA. Carbohydrate and protein hydrolysate coingestion's improvement of late-exercise time-trial performance. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2009; 19(2): 136-149.
26. Ferguson-Stegall L, McCleave EL, Ding Z, Kammer LM, Wang B, Doerner PG, et al. The Effect of a Low Carbohydrate Beverage With Added Protein on Cycling Endurance Performance in Trained Athletes. *J Strength Cond Res* 2010; 24(10): 2577-2586.
27. Van Essen M, Gibala MJ. Failure of Protein to Improve Time Trial Performance when Added to a Sports Drink. *Med Sci Sports Exerc* 2006; 38(8): 1476-83.
28. Toone RJ, Betts JA. Isocaloric Carbohydrate Versus Carbohydrate-Protein Ingestion and Cycling Time-Trial Performance. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2010; 20(1): 34-43.
29. Martínez-Lagunas V, Ding Z, Bernard JR, Wang B, Ivy JL. Added Protein Maintains Efficacy of a Low-Carbohydrate Sports Drink. *J Strength Cond Res* 2010; 24(1): 48-59.

30. Breen L, Tipton KD, Jeukendrup AE. No Effect of Carbohydrate-Protein on Cycling Performance and Indices of Recovery. *Med Sci Sports Exerc* 2010; 42(6): 1140-8.
31. Gasier II, Olson C. The Effects of a Carbohydrate-Protein Drink on Performance and Mood in U.S. Pararescue Trainees. *JEPonline* 2010; 13(3): 22-31.
32. Alghannam AF. Carbohydrate-Protein Ingestion Improves Subsequent Running Capacity Towards the End of a Football-Specific Intermittent Exercise. *Appl Physiol Nutr Metab* 2011; 36(5): 748-57.
33. Stearns RL, Emmanuel H, Volek JS, Casa DJ. Effects of Ingesting Protein in Combination with Carbohydrate During Exercise on Endurance Performance: A Systematic Review with Meta-Analysis. *J Strength Cond Res* 2010; 24(8): 2192-2202.
34. Saunders MJ. Coingestion of Carbohydrate-Protein During Endurance Exercise: Influence on Performance and Recovery. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2007; 17(Suppl): S87-103.
35. Romano-Ely BC, Todd KM, Saunders MJ, Laurent T. Effect of an Isocaloric Carbohydrate-Protein-Antioxidant Drink on Cycling Performance. *Med Sci Sports Exerc* 2006; 38(9): 1608-16.
36. Osterberg KL, Zachwieja JJ, Smith JW. Carbohydrate and carbohydrate + protein for cycling time-trial performance. *J Sports Sci* 2008; 26(3): 227-233.

Chihuahua, Chihuahua, 16 de marzo de 2018

**M.A.P. Edel Omar Montoya Maldonado**

Departamento de Gestoría y Fortalecimiento Institucional

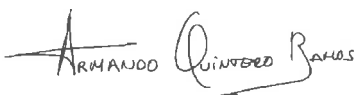
Dirección de Planeación y Desarrollo Institucional.

Universidad Autónoma de Chihuahua.

Anexo al presente, un informe del apoyo brindado por PRODEP en el 2016, para la publicación de un artículo arbitrado indexado: *Physicochemical changes and resistant-starch content in extruded cornstarch under storage conditions*, el cual fue publicado en el Journal Molecules 2016, 21(8), 1064; doi:10.3390/molecules21081064. El journal Molecules (ISSN 1420-3049; CODEN: MOLEFW) es editado por MDPI AG, el cual se encuentra en el Journal Citation Report (JCR) con un factor de impacto de 2.861. Un detalle de la aplicación del recurso y beneficios se describen a continuación.

- 1) El fondo aprobado para el pago de la publicación fue de 1800 francos suizos, el cual se aplicó el 10 de agosto de 2016. (Anexo1: factura y artículo publicado).
- 2) Dentro de los beneficios alcanzados por la aplicación de este fondo tenemos:
  - a. Contribuyó para que David Neder Suárez, obtuviera su grado de Doctor en Ciencia con acentuación en Alimentos en la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo Leon, donde fui Director Externo de Tesis de Grado de Doctorado en la Facultad de Ciencias Biológicas de la UANL. (Anexo 2 portada de tesis y acta de examen)
  - b. La publicación del artículo: *Physicochemical changes and resistant-starch content in extruded cornstarch under storage conditions*, contribuirá en una mejora en el futuro de indicadores para seguir con las Distinciones del Perfil Deseable de PRODEP y Sistema Nacional de Investigadores.

Saludos cordiales



Dr. Armando Quintero Ramos  
Universidad Autónoma de Chihuahua  
Facultad de Ciencias Químicas.

Anexo1  
Factura y artículo publicado

## Factura de pago de publicación





**Armando Quintero-Ramos**  
Facultad de Ciencias Químicas  
Univeridad Autónoma de Chihuahua  
Campus 2  
Circuito Universitario  
Chihuahua 31125  
Mexico

## INVOICE

MDPI AG  
Klybeckstrasse 64  
4057 Basel  
Switzerland  
Tel.: +41 61 683 77 34  
Fax: +41 61 302 89 18  
E-Mail: [billing@mdpi.com](mailto:billing@mdpi.com)  
Website: [www.mdpi.com](http://www.mdpi.com)  
VAT nr. CHE-115.694.943

Date of Invoice: 10 August 2016  
Manuscript/Invoice ID: molecules-138979  
Your Order: by e-mail ([aqura60@gmail.com](mailto:aqura60@gmail.com)) on 18 June 2016  
Article Title: "Physicochemical changes and resistant-starch content in extruded cornstarch under storage conditions "  
Name of co-authors: David Neder-Suárez , Carlos A. Amaya-Guerra , Armando Quintero-Ramos , Esther Pérez-Carrillo , María G. De J. Alanís-Guzmán , Juan G. Báez-González , Carlos L. García-Díaz , María A. Núñez-González , Daniel Lardizábal-Gutiérrez and Jorge A. Jiménez-Castro  
Terms of payment: 5 days

Description	Currency	Amount
Open Access Publication Fees	CHF	1 800.00
Subtotal without VAT	CHF	1 800.00
VAT (0%)	CHF	0.00
<b>Total with VAT</b>	<b>CHF</b>	<b>1 800.00</b>

### Accepted Payment Methods

1. Online Payment by Credit Card in Swiss Francs (CHF)

Please visit <https://payment.mdpi.com/82292> to pay by credit card. We accept payments in Swiss Francs (CHF) made through VISA, MasterCard or AmericanExpress.

2. Wire Transfer in Swiss Francs (CHF)

**Important: Please provide the Invoice ID (molecules-138979) when transferring the payment.**

Payment in CHF must be made by wire transfer to the MDPI AG bank account. Banks fees must be paid by the customer, for both, payer and payee so that MDPI AG can receive the full invoiced amount.

Beneficiary's Name: MDPI AG  
Beneficiary's Address: MDPI AG, Klybeckstrasse 64, CH-4057 Basel, Switzerland  
Bank Account Number (CHF, Swiss Francs Account for MDPI): 0060-1604356-51  
Bank Name: Credit Suisse  
Bank Address: Credit Suisse, St. Alban-Graben 1-3, Postfach 2560, CH-4002 Basel, Schweiz  
IBAN: CH48 0483 5160 4356 5100 0  
SWIFT code (Wire Transfer Address): CRESCHZZ80A  
Clearing number: 4835

For detailed payment instructions, or for more payment methods, visit the website at <http://www.mdpi.com/about/payment> (Username: mdpi, Password: MDPI-PM-PASS).

Artículo publicado

Article

# Physicochemical Changes and Resistant-Starch Content of Extruded Cornstarch with and without Storage at Refrigerator Temperatures

David Neder-Suárez<sup>1</sup>, Carlos A. Amaya-Guerra<sup>1</sup>, Armando Quintero-Ramos<sup>2,\*</sup>, Esther Pérez-Carrillo<sup>3</sup>, María G. de J. Alanís-Guzmán<sup>1</sup>, Juan G. Báez-González<sup>1</sup>, Carlos L. García-Díaz<sup>1</sup>, María A. Núñez-González<sup>1</sup>, Daniel Lardizábal-Gutiérrez<sup>4</sup> and Jorge A. Jiménez-Castro<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Investigación y Posgrado, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Ciudad Universitaria, San Nicolás de los Garza 66450, Mexico; neder\_david@yahoo.com.mx (D.N.-S.); numisamaya@hotmail.com (C.A.A.-G.); maria.alanisgm@uanl.edu.mx (M.G.d.J.A.-G.); juan.baezgn@uanl.edu.mx (J.G.B.-G.); clgarciadiaz@gmail.com (C.L.G.-D.); maria.nunezgn@uanl.edu.mx (M.A.N.-G.)

<sup>2</sup> Departamento de Investigación y Posgrado, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Chihuahua, Circuito Universitario s/n Campus Universitario 2, Chihuahua 31125, Mexico; jajimenez@uach.mx

<sup>3</sup> Centro de Biotecnología-FEMSA, Escuela de Ingeniería y Ciencias, Tecnológico de Monterrey, Av. Eugenio Garza Sada 2501 Sur, Monterrey 64849, Mexico; perez.carrillo@itesm.mx

<sup>4</sup> Centro de Investigación en Materiales Avanzados, S. C. Avenida Miguel de Cervantes 120, Complejo Industrial Chihuahua, Chihuahua 31109, Mexico; daniel.lardizabal@cimav.edu.mx

\* Correspondence: aquinter@uach.mx or aquira60@gmail.com; Tel./Fax: +52-614-236-6000

Academic Editor: Derek J. McPhee

Received: 18 June 2016; Accepted: 10 August 2016; Published: 15 August 2016

**Abstract:** Effects of extrusion cooking and low-temperature storage on the physicochemical changes and resistant starch (RS) content in cornstarch were evaluated. The cornstarch was conditioned at 20%–40% moisture contents and extruded in the range 90–130 °C and at screw speeds in the range 200–360 rpm. The extrudates were stored at 4 °C for 120 h and then at room temperature. The water absorption, solubility index, RS content, viscoelastic, thermal, and microstructural properties of the extrudates were evaluated before and after storage. The extrusion temperature and moisture content significantly affected the physicochemical properties of the extrudates before and after storage. The RS content increased with increasing moisture content and extrusion temperature, and the viscoelastic and thermal properties showed related behaviors. Microscopic analysis showed that extrusion cooking damaged the native starch structure, producing gelatinization and retrogradation and forming RS. The starch containing 35% moisture and extruded at 120 °C and 320 rpm produced the most RS (1.13 g/100 g) after to storage at low temperature. Although the RS formation was low, the results suggest that extrusion cooking could be advantageous for RS production and application in the food industry since it is a pollution less, continuous process requiring only a short residence time.

**Keywords:** extrusion cooking; resistant starch; thermal properties; viscoelastic properties; cornstarch

## 1. Introduction

Starch is a complex carbohydrate composed of glucose units consisting of amylose and amylopectin [1,2] and is widely used in food production. However, current market trends demand functional ingredients with health benefits, and starch transformed into resistant starch (RS) shows advantages in a diverse range of applications. RS has modified starch or starch fractions that are indigestible in the small intestine, so it is similar to dietary fiber and shows similar health benefits [3,4].

RS is classified as physically inaccessible starch (type 1), raw starch granules and high-amylose starch (type 2), retrograded gelatinized starch or dispersion granules (type 3), and chemically modified starch (type 4) [4–7].

RS yields vary according to the hydrolysis process used; e.g., HCl (12%–25%) [8,9], lactic acid (2%–8%) [10], citrate (41%), and phosphate (25%–70%) [11,12]. Alternative hydrothermal processes performed at 110 °C over three days yielded 12% RS [13] and up to 25% in an acidic environment [14–17]. However, such processes are lengthy, show high energy cost, and produce pollutants [18] and in some cases even require batch type operations that produce low yields [13,18]; therefore, such processes are impractical for industrial scaling.

Extrusion cooking has conventionally been used to obtain a variety of extruded products because it is a continuous process, it is versatile, and it shows short processing times, high productivity, and energy efficiency [4,5,18–21]. The extrusion cooking process (ECP) has been used to produce RS [5,13,20,22–24] at low yields under certain extrusion conditions [20]. Under some conditions, however, the ECP did not produce any RS [13] due to the effect of extrusion variables such as extrusion temperature, moisture content, and screw speed during processing [13,20,22,25]. Certain combinations of these parameters result in starch retrogradation or excessive dextrinization [5,7,9,26–31], which limit the formation of RS. Cornstarch has previously been extruded at high screw speeds without RS detection [13]. High-moisture-content banana and oat starches have generated low-yield RS due to a low gelatinization and component release, respectively [20,24]. Wheat flour subjected to high-temperature extrusion showed low levels of RS due to high dextrinization during the ECP [5], rendering the starch unusable for RS generation [23,32]. Other studies [22,23] have reported the production of more than 10% RS from mango and banana starches at different moisture contents and extrusion temperatures, suggesting that more studies are needed to evaluate the influence of extrusion variables in other ranges of the process on RS formation. Optimizing the moisture content, extrusion temperature, and screw speed is critical for the formation of RS. Therefore, the aims of this study were to evaluate and optimize the ECP conditions and to determine their effects on the physical and chemical changes in RS formed from cornstarch.

## 2. Results and Discussion

### 2.1. Chemical Composition of Cornstarch

The proximate composition of the native cornstarch is shown in Table 1. The moisture, ash, protein, and fat contents were 10.9%, 0.03%, 0.1%, and 0.05%, respectively. Similar results have previously been reported [23,33]. The RS content was 0.670 g/100 g, similar to the finding reported by Shi and Gao [34].

**Table 1.** Physicochemical characteristics of native cornstarch.

Parameter	Content
Moisture content (%)	10.9 ± 0.29
Proteins (%)	0.10 ± 0.06
Fat (%)	0.05 ± 0.03
Ash (%)	0.03 ± 0.01
Resistant starch (g/100 g)	0.67 ± 0.022
Apparent viscosity (Pa·s)	0.89 ± 0.015
Storage modulus (Pa)	0.50 ± 0.02
Loss modulus (Pa)	0.47 ± 0.08
The ratio of loss modulus/storage modulus	0.87 ± 0.15
Enthalpy (J/g)	9.91 ± 0.80
Gelatinization temperature (°C)	72.40 ± 0.07
Water absorption index	1.80 ± 0.01
Water solubility index	0.13 ± 0.05

Values are the average of triplicate measurements ± standard deviation.

## 2.2. Model Fitting

The influences of the extrusion temperature, feed moisture content, and screw speed on the physical and chemical properties of cornstarch are shown in Tables 2 and 3, respectively. The analysis of variance for all the responses indicated an adequate adjustment without significant lack of fit, except for the RS content and the WSI of the extruded starch before storage (EBS) (Table 4). The regression coefficients were obtained by fitting the experimental data to the second-order model (Table 5), and the models gave satisfactory  $R^2$  values.

## 2.3. Water Absorption Index (WAI)

The WAI is an indicator of the capacity of flour to absorb water, which depends on the availability of hydrophilic groups that bind to water molecules and on the capacity of macromolecules to form a gel [35]. The values ranged from 2.7 to 6.8, higher than that of the native starch (1.8). The screw speed and moisture content significantly affected the WAI of the EBS, while the extrusion temperature and moisture content significantly affected the WAI of the extruded starch after storage (EAS) (Table 4). Figure 1a,b shows the effects of the extrusion temperature and the moisture content on the WAI of the EBS and EAS extrudates, respectively. The WAI of the EBS extruded at 106 °C and a screw speed of 249.5 rpm increased to a maximum of 6.33 at a moisture content of 28.5% with increasing extrusion temperature and moisture content (Figure 1a). The EAS showed a similar trend (Figure 1b) with marked effects of moisture content and extrusion temperature (Table 4). The adjusted model shows that the maximum WAI for the EAS containing 27.3% moisture and extruded at 112 °C and 267.3 rpm was similar to the WAI for the EBS. The changes in the WAI of the EBS and EAS are attributed mainly to the extrusion temperature and the high moisture content, which both favor mixing in the extruder thereby increasing starch granule swelling and starch gelatinization, which increase the capacity of the starch to absorb water and increase the starch viscosity [36]. Figure 1a shows at low moisture content the WAI was influenced by temperature, at low temperatures, starch gelatinization was low minimizing the amount of damage to the starch structure [24,37]. While at high extrusion temperatures cause crystal melting of amylopectin molecules, generating more starch damage (dextrinization and destruction of starch structure), decreasing the WAI [23,25].

## 2.4. Water Solubility Index (WSI)

The WSI is a parameter for measuring the degradation of starch. Lower WSI values indicate that less starch is degraded and that the extruded products contain fewer soluble molecules [38]. Figure 1c shows that the WSI of the EBS containing 40.4% moisture and extruded at 110.3 °C and 348 rpm decreased with increasing moisture content to a minimum of 2.13. The WSI of the EAS shows a similar trend (Figure 1b). The adjusted model shows a saddle point for the EAS containing 70.97% moisture and extruded at 204.67 °C and 283.47 rpm, which explains 85% of the variability in the data. The WSI decreased at high moisture contents due to partial starch gelatinization during extrusion, which prevents the release of components [20,22,39]. High moisture contents in feed into the extruder possibly act like lubricants during transportation of solid through the barrel, minimizing the phenomenon of starch gelatinization and thus the associated changes in the rheological and functional properties (WSI). Similar results have been reported by Bhattacharya et al. [40]. Treatments under low-moisture conditions may restrict the flow of material into the extruder barrel thereby incrementing the amount of friction and the viscosity of the starch [36], which increases the number of degraded starch granules formed at high temperatures thereby forming significantly more water-soluble products [41]. This phenomenon is caused by greater fragmentation of the starch, a process known as dextrinization, during extrusion thereby increasing the percentage of gelatinized starch [24,25,35,37].

Table 2. Physicochemical and thermal properties of extruded cornstarch at different process conditions.

T	A	B	C	Physicochemical Properties						Thermal Properties	
				EBS			EAS			EAS	
				WAI	WSI	RS	WAI	WSI	RS	$\Delta H$	T <sub>g</sub>
1	100	25	240	5.54 ± 0.69	13.78 ± 1.68	0.604 ± 0.017	5.75 ± 0.31	10.96 ± 1.46	0.632 ± 0.064	0.59 ± 0.008	101.65 ± 0.89
2	120	25	240	4.90 ± 0.26	16.47 ± 2.10	0.540 ± 0.014	5.86 ± 0.08	14.23 ± 0.58	0.930 ± 0.040	0.06 ± 0.009	92.89 ± 1.31
3	100	35	240	4.41 ± 0.04	5.48 ± 0.23	0.638 ± 0.051	3.08 ± 0.33	4.78 ± 0.19	0.823 ± 0.013	0.43 ± 0.100	100.71 ± 1.55
4	120	35	240	4.90 ± 0.13	4.26 ± 0.67	0.559 ± 0.020	2.99 ± 0.12	4.11 ± 0.14	1.134 ± 0.028	0.46 ± 0.050	101.27 ± 0.23
5	100	25	320	4.74 ± 0.60	28.04 ± 4.52	0.681 ± 0.015	5.10 ± 0.16	13.71 ± 1.12	0.694 ± 0.010	0.69 ± 0.040	101.25 ± 0.28
6	120	25	320	4.42 ± 0.04	28.17 ± 1.88	0.572 ± 0.041	4.69 ± 0.16	20.11 ± 3.13	0.936 ± 0.024	0.01 ± 0.009	95.12 ± 0.74
7	100	35	320	4.77 ± 0.07	4.77 ± 0.20	0.625 ± 0.013	2.90 ± 0.20	2.90 ± 0.04	0.975 ± 0.017	0.79 ± 0.030	101.01 ± 0.95
8	120	35	320	5.40 ± 0.10	7.40 ± 0.65	0.576 ± 0.045	2.79 ± 0.33	5.14 ± 0.39	0.845 ± 0.036	0.08 ± 0.040	94.61 ± 0.36
9	90	30	280	6.02 ± 0.09	9.14 ± 0.40	0.488 ± 0.032	4.07 ± 0.01	6.20 ± 1.10	0.465 ± 0.024	0.92 ± 0.200	100.81 ± 0.79
10	130	30	280	4.56 ± 0.01	10.51 ± 0.21	0.502 ± 0.056	5.50 ± 0.02	10.47 ± 0.64	0.651 ± 0.019	0.38 ± 0.010	100.84 ± 0.91
11	110	20	280	4.37 ± 0.20	28.65 ± 1.58	0.791 ± 0.017	3.71 ± 0.20	17.54 ± 1.75	0.830 ± 0.015	0.01 ± 0.008	101.66 ± 0.33
12	110	40	280	4.12 ± 0.03	3.39 ± 0.70	0.679 ± 0.026	2.78 ± 0.21	4.67 ± 0.14	1.049 ± 0.020	0.53 ± 0.001	100.67 ± 1.91
13	110	30	200	6.45 ± 0.06	8.14 ± 0.78	0.503 ± 0.021	4.72 ± 0.06	3.96 ± 0.10	0.563 ± 0.025	0.39 ± 0.060	100.36 ± 1.23
14	110	30	360	5.77 ± 0.50	10.47 ± 0.21	0.492 ± 0.011	4.95 ± 0.06	6.19 ± 0.19	0.564 ± 0.033	0.38 ± 0.030	98.25 ± 1.05
15	110	30	280	6.76 ± 0.63	8.18 ± 0.14	0.323 ± 0.014	5.06 ± 0.23	4.46 ± 0.32	0.422 ± 0.022	0.21 ± 0.010	101.63 ± 0.14
16	110	30	280	6.21 ± 0.06	5.75 ± 1.76	0.405 ± 0.029	5.89 ± 0.27	4.85 ± 0.41	0.407 ± 0.035	0.26 ± 0.003	100.29 ± 0.60
17	110	30	280	6.52 ± 0.58	6.06 ± 0.90	0.388 ± 0.020	6.17 ± 0.28	6.14 ± 0.17	0.452 ± 0.025	0.24 ± 0.020	98.22 ± 0.28
18	110	30	280	6.29 ± 0.15	6.02 ± 1.12	0.419 ± 0.033	6.53 ± 0.16	8.73 ± 0.42	0.416 ± 0.010	0.39 ± 0.060	99.15 ± 0.49
19	110	30	280	6.12 ± 0.20	7.14 ± 0.13	0.394 ± 0.021	5.58 ± 0.31	5.24 ± 0.70	0.325 ± 0.025	0.35 ± 0.050	99.82 ± 0.53
20	110	30	280	6.93 ± 0.39	7.42 ± 0.26	0.323 ± 0.012	6.81 ± 0.05	8.11 ± 1.16	0.352 ± 0.019	0.32 ± 0.002	98.87 ± 0.27

Values are the average of triplicate measurements ± standard deviation. T = Treatment; A = Extrusion temperature (°C); B = Moisture content (%); C = Screw speed (rpm); EBS = Extruded flours before the storage; EAS = Extruded flours after the storage at 4 °C for 120 h; WAI = Water absorption index; WSI = Water solubility index; RS = Resistant starch (g/100 g);  $\Delta H$  = Enthalpy of gelatinization (J/g); T<sub>g</sub> = Gelatinization temperature (°C).

Table 3. Rheological properties of extruded cornstarch at different process conditions.

T	A	B	C	EBS				EAS			
				G'	G''	tan δ	η	G'	G''	tan δ	η
1	100	25	240	107.67 ± 1.07	24.93 ± 0.23	0.23 ± 0.001	16.24 ± 0.42	0.81 ± 0.19	0.66 ± 0.09	0.73 ± 0.064	0.11 ± 0.01
2	120	25	240	59.09 ± 1.48	18.97 ± 1.42	0.32 ± 0.030	27.05 ± 1.23	49.16 ± 9.27	17.85 ± 3.17	0.49 ± 0.019	11.51 ± 0.22
3	100	35	240	0.53 ± 0.34	0.37 ± 0.08	0.72 ± 0.179	0.08 ± 0.03	0.64 ± 0.23	0.53 ± 0.18	0.69 ± 0.152	0.073 ± 0.01
4	120	35	240	1.57 ± 0.58	1.69 ± 0.31	0.90 ± 0.610	0.80 ± 0.03	0.85 ± 0.26	0.43 ± 0.21	0.50 ± 0.104	0.17 ± 0.15
5	100	25	320	55.00 ± 21.0	17.34 ± 4.46	0.32 ± 0.042	6.36 ± 0.31	1.37 ± 0.21	1.29 ± 0.38	0.93 ± 0.148	0.20 ± 0.40
6	120	25	320	27.76 ± 3.01	13.76 ± 2.46	0.46 ± 0.020	10.64 ± 0.11	30.06 ± 3.93	14.97 ± 0.43	0.77 ± 0.087	6.26 ± 0.38
7	100	35	320	1.00 ± 0.42	1.21 ± 0.52	0.94 ± 0.138	1.03 ± 0.14	0.57 ± 0.08	0.35 ± 0.21	0.65 ± 0.157	0.09 ± 0.01
8	120	35	320	26.07 ± 6.50	11.20 ± 1.85	0.43 ± 0.066	2.46 ± 0.09	0.43 ± 0.11	0.22 ± 0.58	0.32 ± 0.013	0.22 ± 0.09
9	90	30	280	19.35 ± 2.70	8.89 ± 1.92	0.50 ± 0.006	1.75 ± 0.15	1.06 ± 0.02	1.57 ± 0.06	1.48 ± 0.079	0.30 ± 0.02
10	130	30	280	100.41 ± 3.80	26.96 ± 1.17	0.26 ± 0.010	19.79 ± 2.36	42.81 ± 1.66	13.95 ± 0.33	0.26 ± 0.001	9.46 ± 0.02
11	110	20	280	21.80 ± 1.76	11.01 ± 0.93	0.50 ± 0.014	1.71 ± 0.18	8.23 ± 0.84	6.36 ± 0.19	0.77 ± 0.066	1.77 ± 0.06
12	110	40	280	1.16 ± 0.36	0.89 ± 0.30	0.82 ± 0.013	0.44 ± 0.02	0.46 ± 0.15	0.52 ± 0.05	0.36 ± 0.005	0.31 ± 0.06
13	110	30	200	99.46 ± 5.60	29.10 ± 2.05	0.29 ± 0.009	9.57 ± 0.73	0.43 ± 0.06	0.64 ± 0.09	1.49 ± 0.082	0.31 ± 0.02
14	110	30	360	109.58 ± 8.62	26.96 ± 2.53	0.25 ± 0.013	15.75 ± 0.21	30.75 ± 2.15	13.09 ± 1.12	1.17 ± 0.251	1.96 ± 0.16
15	110	30	280	291.10 ± 7.63	56.41 ± 1.70	0.21 ± 0.004	32.84 ± 1.85	45.09 ± 3.28	55.85 ± 3.10	0.20 ± 0.001	22.11 ± 0.40
16	110	30	280	211.43 ± 24.1	40.72 ± 2.67	0.21 ± 0.005	29.52 ± 2.77	44.40 ± 4.15	37.40 ± 1.73	0.20 ± 0.010	20.43 ± 0.42
17	110	30	280	234.00 ± 23.5	48.83 ± 0.74	0.19 ± 0.009	25.11 ± 0.12	60.56 ± 5.32	35.63 ± 2.31	0.17 ± 0.003	23.43 ± 0.05
18	110	30	280	289.00 ± 2.82	39.34 ± 2.02	0.18 ± 0.011	33.87 ± 0.67	60.46 ± 3.23	52.50 ± 0.21	0.17 ± 0.003	21.06 ± 0.70
19	110	30	280	316.40 ± 22.5	53.31 ± 0.40	0.19 ± 0.009	37.47 ± 2.04	57.23 ± 2.70	31.77 ± 0.25	0.18 ± 0.007	23.32 ± 0.33
20	110	30	280	263.28 ± 27.9	51.30 ± 5.18	0.22 ± 0.003	28.35 ± 1.18	60.92 ± 2.26	36.11 ± 0.84	0.18 ± 0.006	22.10 ± 0.67

Values are the average of triplicate measurements ± standard deviation. T = Treatment; A = Extrusion temperature (°C); B = Moisture content (%); C = Screw speed (rpm); EBS = Extruded flours before the storage; EAS = Extruded flours after the storage at 4 °C for 120 h; G' = Storage modulus (Pa); G'' = Loss modulus (Pa); tan δ = The ratio of loss modulus/storage modulus; η = Apparent viscosity (Pa·s).

Table 4. Analysis of variance of physicochemical properties of cornstarch extruded at different condition process.

Source	DF	Mean Squares															
		Physicochemical Properties						Rheological Properties						Thermal Properties			
		EBS			EAS			EBS			EAS			EAS			
		WAI	WSI	RS	WAI	WSI	RS	G'	G''	tan δ	η	G'	G''	tan δ	η	ΔH	Tg
Model	9	1.41 *	127.30 *	0.030 *	2.74 *	44.84 *	0.097 *	22,390.78 *	603.56 *	0.10 *	308.26 *	1151.80 *	620.72 *	0.35 *	188.81 *	0.12 *	6.43
A	1	0.48	3.04	0.004	0.35	24.46	0.075	789.77	82.14	0.021	177.78	1612.21	191.83	0.70 *	81.07	0.55 *	26.72
B	1	0.024	827.28 *	0.003	8.27	287.51 *	0.068	4278.16	407.39	0.33 *	213.5	557.36	126.07	0.16 *	26.15	0.13 *	1.38
C	1	0.2	68.27 *	5 × 10 <sup>-4</sup>	0.19	9.36	0.004	94.09	2.85	0.0007	8.86	108.24	30.96	0.009	0.2	1 × 10 <sup>-5</sup>	4.78
AB	1	0.54	0.25	2 × 10 <sup>-4</sup>	0.001	8.2	0.017	1298.74	54.3	0.38	20.94	740.65	120.85	0.001	37.14	0.038	10.27
AC	1	0.028	0.21	4 × 10 <sup>-5</sup>	0.036	4.57	0.03	257.15	15.25	0.51	4.23	50.03	1.58	0.0003	3.54	0.1 *	2.34
BC	1	0.57	69.27 *	0.001	0.26	11.21	0.004	1484.3	66.89	0.029	104.45	40.73	0.43	0.60	3.41	5 × 10 <sup>-4</sup>	8.39
A <sup>2</sup>	1	3.15	27.45	0.034 *	3.21 *	11.73	0.1	87,001.11 *	2015.96 *	0.093	797.83 *	2254.50 *	2215.74 *	0.67 *	567.04 *	0.19 *	0.48
B <sup>2</sup>	1	9.52 *	169.13 *	0.24 *	13.86 *	47.63 *	0.64	126,500 *	3526.73 *	0.042 *	1361.98 *	4834.64 *	2754.69 *	0.19 *	819.45 *	0.001	1.26
C <sup>2</sup>	1	0.56 *	21.01	0.036 *	2.99	0.43	0.11 *	57,122.64 *	1005.44 *	0.025	679.09 *	3073.96 *	2323 *	1.93 *	812.36 *	0.012	1.47
Residual	10	0.3	9.86	0.004	0.84	4.77	0.032	38,113.3	123.83	0.26	52.94	182.98	105.05	0.025	13.56	0.014	6.26
Lack of fit	5	0.49	18.78 *	0.007	1.28	6.38	0.062 *	30,418.4	280.15	0.052 *	86.47	302.91	109.78	0.050 *	25.69	0.022 *	11.1 *
Pure error	5	0.1	0.93	0.002	0.41	3.15	0.003	7694.92	47.6	0.0019	19.41	63.05	100.33	0.0002	1.42	0.005	1.45
R <sup>2</sup>		0.81	0.92	0.85	0.75	0.84	0.73	0.84	0.81	0.78	0.84	0.85	0.84	0.92	0.92	0.91	0.47

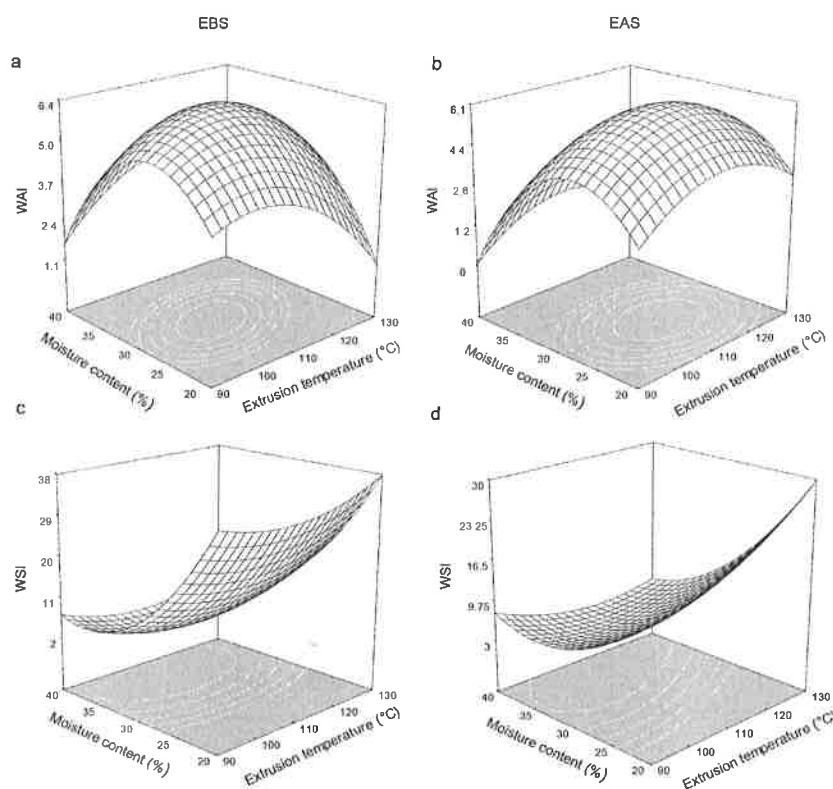
\* Significance ( $p < 0.05$ ). A = Extrusion temperature; B = Moisture content; C = Screw speed; EBS = Extruded flours before the storage; EAS = Extruded flours after the storage at 4 °C for 120 h; WAI = Water absorption index; WSI = Water solubility index; RS = Resistant starch; G' = Storage modulus; G'' = Loss modulus; tan δ = The ratio of loss modulus/storage modulus; η = Apparent viscosity; ΔH = Enthalpy of gelatinization; Tg = Gelatinization temperature.



Table 5. Regression coefficients from second-order model of relationships between response and independent variables for extruded cornstarch.

Coefficient	Physicochemical Properties						Rheological Properties						Thermal Properties			
	EBS			EAS			EBS			EAS			EAS			
	WAI	WSI	RS	WAI	WSI	RS	G'	G''	tan δ	η	G'	G''	tan δ	η	ΔH	T <sub>g</sub>
b <sub>0</sub>	6.35 *	7.32 *	0.39 *	6.35 *	6.58 *	0.44 *	253.71 *	45.80 *	0.23 *	30.14 *	52.35 *	39.66 *	0.17 *	21.18 *	0.29 *	99.35
b <sub>1</sub>	-0.17	0.44	-0.01	-0.17	1.24	0.06	7.03	2.27	-0.036	3.33	10.04	3.46	-0.21 *	2.25	-0.19 *	-1.29
b <sub>2</sub>	-0.04	-7.19 *	-0.01	-0.03 *	-4.74 *	5 × 10 <sup>-4</sup>	-16.35	-5.05	0.14 *	-3.65 *	-5.9	-2.81	-0.10 *	-1.28	0.09 *	0.29
b <sub>3</sub>	-0.11	2.07 *	0.01	-0.11	0.76	-0.04	-2.43	-0.36	-0.006	-0.74	2.6	1.39	-0.024	-0.11	0	-0.55
b <sub>12</sub>	0.26	-0.18	5 × 10 <sup>-4</sup>	0.26	-1.01	-0.06	12.74	2.61	-0.069	-1.62	-9.62	-3.89	-0.015	-2.15	0.07	1.13
b <sub>13</sub>	0.06	0.16	-5 × 10 <sup>-4</sup>	0.06	0.76	-0.02	5.67	1.38	-0.080	-0.73	-2.5	-0.44	-0.006	-0.66	-0.11 *	-0.54
b <sub>23</sub>	0.27	-2.94 *	-2 × 10 <sup>-4</sup>	0.27	-1.18	-0.02	13.62	2.89	-0.060	3.61	2.26	0.23	-0.087	0.65	-0.01	-1.02
b <sub>11</sub>	-0.35	1.04	0.04 *	-0.35	0.68	0.06	-58.82 *	-8.96 *	0.061	-5.63 *	-9.47 *	-9.39 *	0.16 *	-4.75 *	0.09 *	0.14
b <sub>22</sub>	-0.62 *	2.59 *	0.09 *	-0.62 *	1.38	0.16	-70.92 *	-11.84 *	0.13 *	-8.06 *	-13.87 *	-10.47 *	0.086 *	-5.71 *	-0.01	0.22
b <sub>33</sub>	-0.15 *	0.91	0.03 *	-0.15	-0.13	0.06	-47.66 *	-6.32 *	0.032	-5.20 *	-11.06 *	-9.61 *	0.28 *	-5.68 *	0.02	-0.24

\* Significance ( $p < 0.05$ ). A = Extrusion temperature; B = Moisture content; C = Screw speed; EBS = Extruded flours before the storage; EAS = Extruded flours after the storage at 4 °C for 120 h; WAI = Water absorption index; WSI = Water solubility index; RS = Resistant starch; G' = Storage modulus; G'' = Loss modulus, tan δ = The ratio of loss modulus/storage modulus; η = Apparent viscosity; ΔH = Enthalpy of gelatinization; T<sub>g</sub> = Gelatinization temperature.

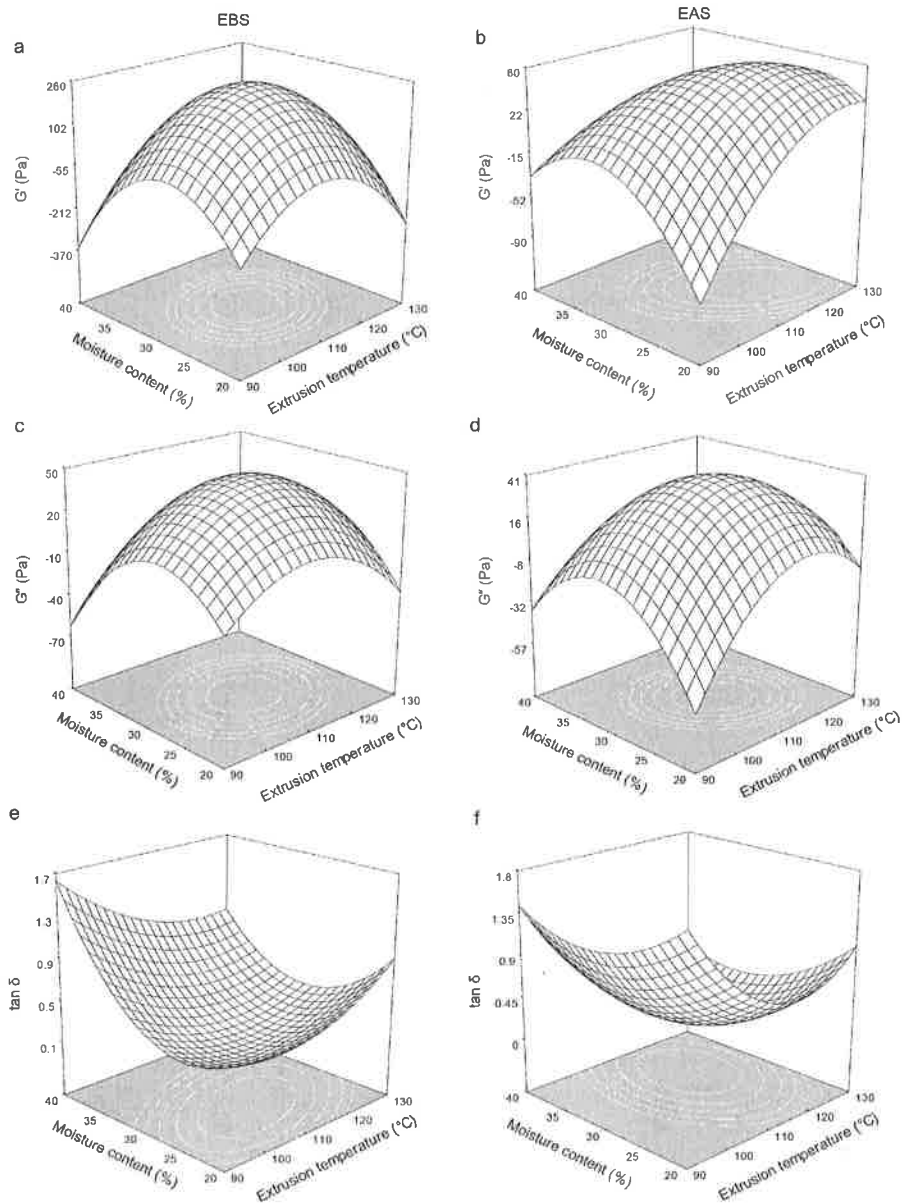


**Figure 1.** Effect of extrusion temperature and moisture content on water absorption index (WAI) and water solubility index (WSI) at a screw speed of 280 rpm on extruded flours before the storage (EBS) and extruded flours after the storage at 4 °C for 120 h (EAS). (a)—WAI of EBS; (b)—WAI of EAS; (c)—WSI of EBS and d—WSI of EAS.

### 2.5. Viscoelastic Properties

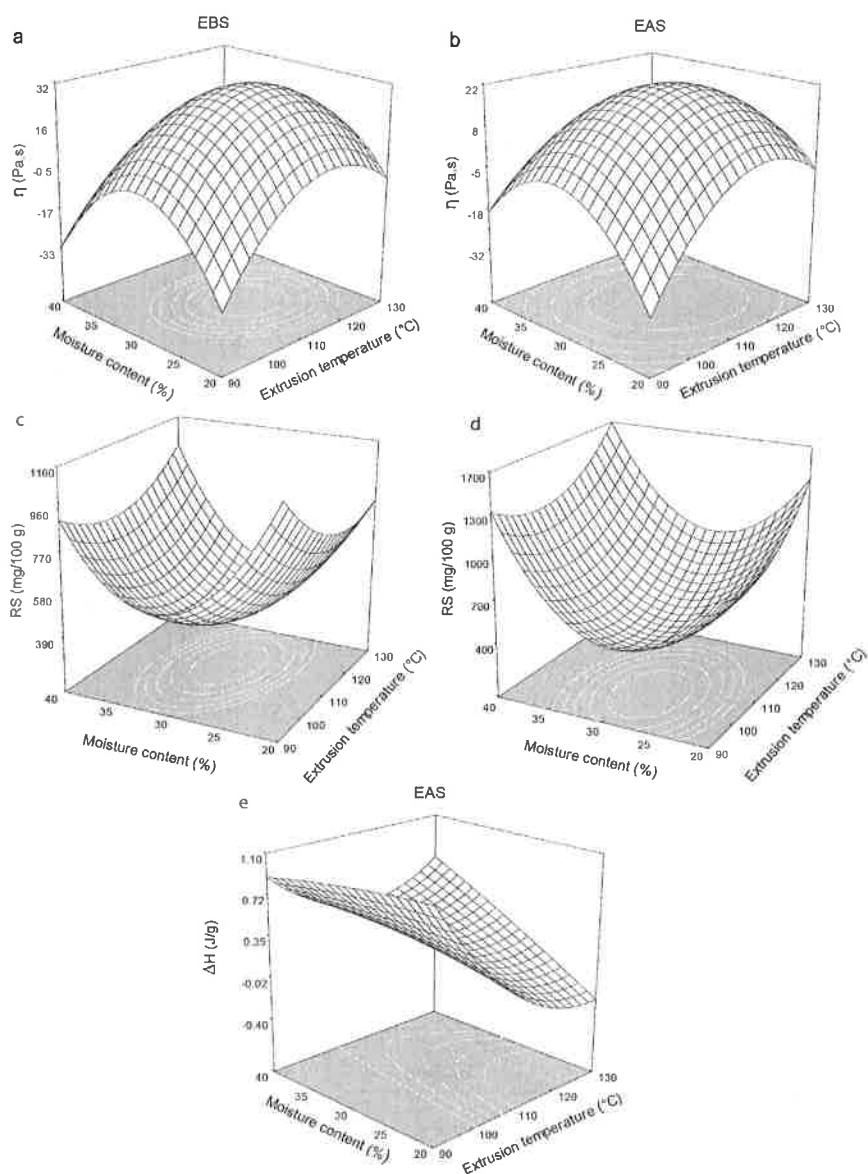
The storage modulus,  $G'$ , is a measure of the amount of energy stored in materials and recovered during cycling, which is indicative of the solid or elastic characteristic of the materials. Another parameter that indicates the physical behavior of a system is the loss modulus ( $G''$ ), which shows the liquid or viscous behavior [42,43]. The extrusion temperature, moisture content, and screw speed significantly ( $p < 0.05$ ) affected both  $G'$  and  $G''$  for the EBS and EAS. Figure 2a,b shows the effects of the extrusion temperature and moisture content on the storage modulus ( $G'$ ) of the EBS and EAS, respectively.  $G'$  for both the EBS and EAS showed similar trends with increasing extrusion temperature and moisture content.  $G'$  increased to a maximum of 225.87 Pa for the EBS containing 29.34% moisture and extruded at 110.46 °C and 277.98 rpm (Figure 2a) and increased to a maximum of 57.83 Pa for the EAS containing 27.6% moisture and extruded at 117.7 °C and 279.26 rpm (Figure 2b).  $G''$  for both the EBS and EAS also showed similar trends with increasing extrusion temperature and moisture content.  $G''$  increased to a maximum of 45.53 Pa for the EBS containing 28.9% moisture and extruded at 110.92 °C and 277.15 rpm, which is similar to the values for the EAS, indicating that storage had minimal effects on the viscous behavior of the extrudates. The relationship between the two moduli was determined through  $\tan \delta = G''/G'$ , which is a useful indicator of the relative contributions of the viscous ( $G''$ ) and elastic ( $G'$ ) components to the viscoelastic properties of a material. The extrusion temperature and moisture content both significantly ( $p < 0.05$ ) affected  $\tan \delta$  for both the EBS and EAS, as shown in Table 5.  $G'$  and  $G''$  both increased with increasing extrusion temperature (Figure 2f). The  $\tan \delta$  reached a saddle point of 0.20 for the EBS containing 28.94% moisture and extruded at 116.62 °C and 309.52 rpm and a minimum of 0.06 for the EAS containing 33.62% moisture and extruded at 116.79 °C and 286.57 rpm (Figure 2e). The low values of  $\tan \delta$  indicate that the material was more

elastic than viscous [43]. The magnitudes of the elasticity and viscosity depend not only on the density, rigidity, and spatial distribution of the granules and on the effective contacts between the granules [43] but also on the physical transformations and on the extent of starch molecule rupture generated during extrusion [42]. These low values of  $\tan \delta$  also are related with RS formation, WAI, WSI and  $\eta$ , since to under the same predicted conditions by the model for low values of  $\tan \delta$  lower RS, apparent viscosity and WSI values (Figure 3b,d and Figure 1d, respectively), and high values of WAI (Figure 1b) were observed. In addition, these behaviors were related with the prediction of a maximum value for  $G'$  (Figure 2b).



**Figure 2.** Effect of extrusion temperature and moisture content on: loss modulus ( $G'$ ), stored modulus ( $G''$ ) and the ratio of loss modulus/storage ( $\tan \delta$ ) at a screw speed of 280 rpm on extruded flours before the storage (EBS) and extruded flours after the storage at 4 °C for 120 h (EAS). (a)— $G'$  of EBS; (b)— $G'$  of EAS; (c)— $G''$  of EBS; (d)— $G''$  of EAS; (e)— $\tan \delta$  of EBS; (f)— $\tan \delta$  of EAS.

The extrusion temperature and moisture content also significantly ( $p < 0.05$ ) affected the apparent viscosity ( $\eta$ ) of the EBS and EAS. The apparent viscosity increased to a maximum of 31.36 Pa·s for the EBS containing 28.46% moisture and extruded at 113.52 °C and 271.8 rpm (Figure 3a) and to a maximum of 21.59 Pa·s for the EAS containing 29.16% moisture and extruded at 112.77 °C and 278.58 rpm (Figure 3b) with increasing extrusion temperature and moisture content. Successive increases or decreases in the extrusion temperature and moisture content reduced  $\eta$  due to starch degradation during processing [25,38] or to low starch gelatinization [24,37], respectively. This behavior also was found in WAI, having a high relation with the rheological parameters ( $G'$ ,  $G''$  and  $\eta$ ) obtained. Since at increases or decreases in the extrusion temperature and moisture content the WAI decreased due to low viscosity obtained under these conditions.



**Figure 3.** Effect of extrusion temperature and moisture content on apparent viscosity ( $\eta$ ), resistant starch (RS) and enthalpy ( $\Delta H$ ) at screw speed of 280 rpm on extruded flours before the storage (EBS) and extruded flours after the storage at 4 °C for 120 h (EAS). (a)— $\eta$  of EBS, (b)— $\eta$  of EAS, (c)—RS of EBS, (d)—RS of EAS, (e)— $\Delta H$  of EAS.

## 2.6. Resistant Starch (RS) Content

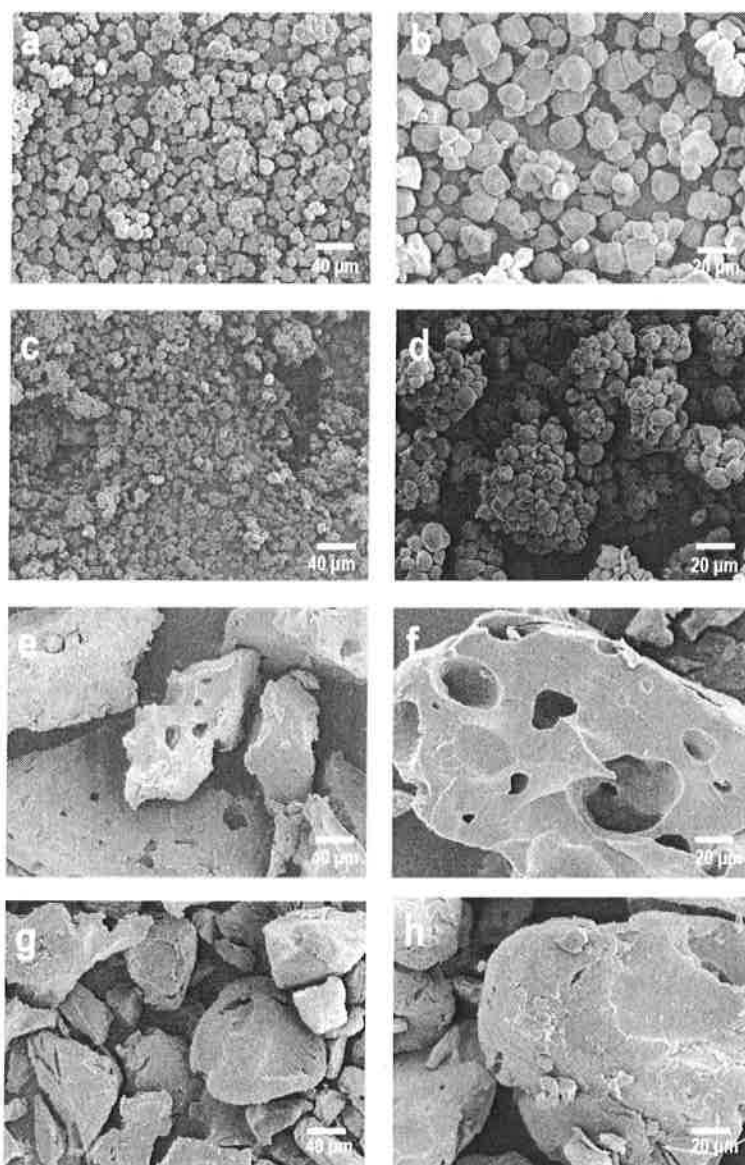
The moisture content, extrusion temperature, and screw speed all significantly affected the amount of RS generated in the EBS and EAS (Table 4) through the quadratic effect. The fitted data model predicted that a significant amount of RS would form in the EBS, which explains the estimated 85% of the variability in the data. The adjusted second-order model for the EAS, however, did not show any significant fit, which explains 73% of the variability in the data. Figure 3c shows the effects of the extrusion temperature and moisture content on the formation of RS in the EBS, reaching a minimum of 0.380 g/100 g for the EBS containing 30.3% moisture and extruded at 112.8 °C and 276.8 rpm.

Successive increases or decreases in the extrusion temperature and the moisture content increased the amount of RS (0.960–1.100 g/100 g) formed in the EBS. The formation of RS in the EAS showed a similar trend and was significantly affected by the screw speed. The EAS containing 29.4% moisture and extruded at 101.6 °C and 286.4 rpm contained a minimum of 0.400 g/100 g of RS (Figure 3d) because the shear stress during extrusion provoked the amylose molecules to break down thereby producing less-polymerized starch molecules, which could not be incorporated into the crystal structure thereby decreasing the amount of RS formed [20,35]. Moreover, other factors such as residence time have been associated with low levels of RS formation. The starch structure is completely damaged during long residence times because the solubilization of amylose molecules and the swelling of the starch granules causes the starch grains to lose their crystallinity [23,32] thereby leading to low RS formation. At higher extrusion temperatures and moisture contents, the model predicts that more RS (1.300–1.700 g/100 g) (Figure 3d) will form. The formation of RS in the EAS (Figure 3d) is attributed either to better nucleation and elongation of amylose and amylopectin chains, which facilitate recrystallization, or to retrogradation [20,32,44,45], where starch molecules may reassociate and form tightly packed structures stabilized by hydrogen bonding [16]. For this reason the water absorption and viscosity decreased, having relation with the low WAI and rheological parameters values ( $G'$ ,  $G''$  and  $\eta$ ) obtained. The best yield of RS obtained in the EAS was 1.134 g/100 g, corresponding to an increase of 68% compared to native starch. This finding show that the extrusion process combined with storage at low temperature is a viable alternative for RS production, through an environment friendly process. This amount of RS was similar to those previously reported by Gonzalez-Soto et al. and Hagenimana et al. [23,25] who obtained RS yields of 0.70–1.30 and 0.90–3.10 g/100 g from cornstarch and rice starch, respectively, but is higher than those previously reported by Faraj et al. [20] who obtained RS yields of 0.017–0.050 g/100 g from extruded barley flour. As can be seen in Table 2 the increment of RS was higher in the most treatments stored at low temperature (EBS) compared to EAS treatments, generating an average increase of 26%.

## 2.7. Thermal Properties

The gelatinization enthalpy is a measure of the crystallinity of the amylopectin, indicating the quality and quantity of the starch crystals [46], and of the amount of energy required for disrupting the H-bonding within junction zones [47]. Two endothermic transitions were found for the native cornstarch: the first corresponding to starch gelatinization and the second to RS formation.  $T_g$  and  $\Delta H$  for the first endothermic transition for the native cornstarch were 69.89 °C and 9.33 J/g, respectively. Similar results have previously been reported [39,42,48,49]. For the second endothermic transition,  $T_g$  and  $\Delta H$  were 102 °C and 0.06 J/g, respectively. The native starch showed high enthalpies because it had not been extruded. The extrusion temperature and the moisture content and the screw speed and extrusion temperature significantly affected the gelatinization enthalpy of the EAS through linear and quadratic effects, respectively (Table 5). The proposed model adequately estimated the data variability. Figure 3e shows the  $\Delta H$  of the EAS containing different amounts of moisture and extruded at different temperatures. At low temperatures and all the moisture contents, the gelatinization enthalpies increased (0.9 J/g) while at the high temperature,  $\Delta H$  decreased to 0.38 J/g. The decrease in enthalpy was due either to starch dextrinization or to macromolecules fractionating under the low moisture levels and high temperatures during shear processing [5,42,50] and has previously been

associated with the melting of an amorphous amylose-lipid complex [26], as shown in a microscopic analysis (Figure 4h).



**Figure 4.** Micrographics SEM of cornstarch (a—200 $\times$ , b—750 $\times$ ), standard resistant starch 52% (c—200 $\times$ , d—750 $\times$ ) and extruded starch (e/g—200 $\times$ , f/h—750 $\times$ ).

### 2.8. Scanning Electron Microscopy (SEM)

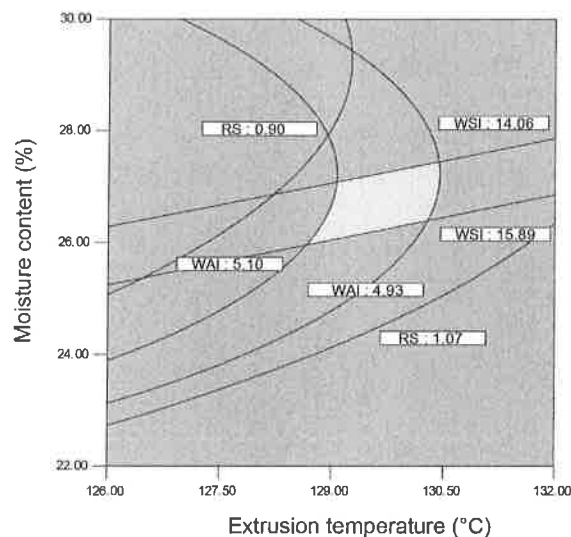
Figure 4a,b shows ~15-micron-diameter native cornstarch granules with smooth, defect-free, round or elliptical surfaces, which do not show any signs of damage [1,26,42,51]. Figure 4c,d shows compactly agglomerated 20–25-micron-diameter starch granules containing 52% RS. Figure 4e,f shows how in the extruded starch, the granular structure of native starch is destroyed during the ECP as a result of high temperatures, stress, and pressure, producing gelatinization and starch dextrinization [20,32,52,53], which are the main mechanisms of starch fragmentation during the ECP [5,42,50]. Amorphous, porous structures were formed in the EAS because the pressure difference

between the extrudate leaving the extruder and the starch still inside the extruder allowed water molecules to evaporate from the extrudate [49], as shown in Figure 4f for 20-micron-diameter EAS granules.

The amylose leached out of the starch granules during extrusion cooking and bound to the surface of the extruded product, as shown in Figure 4h [54]. The starch granules became more irregular and appeared less granular as a consequence of gelatinization, which had provoked coupled starch granules to form a sponge-like structure within the inner region of the retrograded starch [52]. In contrast, the RS showed increased crystallinity and formed a larger, more compact laminiplantation structure [17].

### 2.9. Identification of Optimum Conditions

Canonical analysis [39] was applied to locate the stationary points for the RS, WAI, and WSI responses. An optimization graph of the multianswers was applied [55,56], and the values were grouped and selected for the general optimization of this process. The criterion for the graphic optimization was to find the conditions under which the RS contents were the highest while maintaining the highest WAI and the lowest WSI. The region satisfying this criterion served as a basis for determining the optimum conditions for the process. The overlaid contour plots of the individual RS, WSI, and WAI plots resulted in an optimal region (Figure 5). The predicted optimum conditions were as follows: extrusion temperature (129–131 °C), moisture content (25%–27%), and screw speed (280 rpm), which generated 0.920–0.990 g/100 g for RS content, 3.81–4.98 for the WAI, 21.06 and 19.4–22.23 for the WSI;  $\eta = 1.77$ – $3.81$  Pa·s,  $G' = 42.33$ – $48.46$  Pa, and  $G'' = 7.27$ – $13.83$  Pa for the rheological properties; and 0.08–0.13 J/g for the gelatinization enthalpy.



**Figure 5.** Optimized region obtained of contour plots of the physicochemical characteristics of the flours obtained by extrusion (WAI = water absorption index, WSI = water solubility index, RS = resistant starch).

The identified optimum conditions were verified by performing an independent experiment with the EAS. Table 6 shows the experimentally obtained values and the values estimated by the model for the optimization process. The amounts of error between the experimentally obtained values and the values estimated by the model were 9.09%, 10.33%, and 3.41% for the RS content, the WAI, and the WSI, respectively.

**Table 6.** Experimental and predicted values of the responses variables.

	Experimental	Estimated	% Error
WAI	4.34 ± 0.15	4.84	10.33
WSI	21.06 ± 0.52	20.34	3.41
RS	0.88 ± 0.08	0.96	9.09

Values presented are the average of triplicate of the experiment ± standard deviation.

### 3. Materials and Methods

#### 3.1. Raw Material

The cornstarch (GPC<sup>TM</sup>, Muscatine, IA, USA) used for this study was analyzed for moisture, protein, fat, crude fiber, and ash contents according to methods 934.06, 920.52, 920.152, 945.16, 940.26, and 962.09, respectively [57]. The carbohydrate content was obtained by difference. Additionally, the RS content, apparent viscosity ( $\eta$ ), storage modulus ( $G'$ ), loss modulus ( $G''$ ), the ratio of loss modulus/storage modulus ( $\tan \delta$ ) gelatinization enthalpy ( $\Delta H$ ), gelatinization temperature ( $T_g$ ), water absorption index (WAI), and water solubility index (WSI) were determined.

#### 3.2. Chemicals and Reagents

Maleic acid and sodium azide were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). A RS assay kit including a standard resistant starch with 52% of RS was obtained from Megazyme (Wicklow, Ireland). The other analytical-grade solvents and reagents used for the extractions were obtained from J.T. Baker (Mexico City, Mexico).

#### 3.3. Extrusion Cooking

Starch whose initial moisture content was 10.9% was fed into an extruder at 15.97 kg/h d.b. and was adjusted to 20%, 25%, 30%, 35%, and 40% moisture contents and extruded through a 600-mm-long twin-screw co-rotating pilot scale (BTSK-20/40, Bühler AG, Uzwil, Switzerland), where the length to diameter ratio ( $L/D$ ) = 20. The die diameter was 4 mm, and the screw configuration was specifically selected to create high levels of shear, the first section contained only conveying elements, with the next containing both conveying and kneading elements. Finally, the high-shear section contained conveying, reverse conveying, and kneading elements [58], according to the method described by Ruiz-Gutiérrez et al. [59]. The starch was extruded at 90, 100, 110, 120, and 130 °C, and the extrusion temperature was controlled using a TT-137N water heater (Tool-temp, Sulgen, Switzerland) at the end stage of the extruding chamber. Further, the 180, 240, 280, 320, and 360 rpm screw speeds were evaluated according to the experimental design listed in Table 2. For increase the levels of RS, the extrudates were stored at 4 °C for 120 h in plastic bags and later air-dried at 50 °C for 8 h in a convection oven.

#### 3.4. Extruded Cornstarch Flours

The extruded cornstarch was milled (Hammer mill, Pulvex model 200, Mexico City, Mexico), sieved with a 0.8-mm sieve, and re-sieved with an 80-mesh (177-micron) sieve to obtain uniform EBS and EAS particles, which were stored in plastic bags until the analysis.

#### 3.5. Physical and Chemical Analyses of Extruded Products

##### 3.5.1. Water Absorption Index (WAI) and Water Solubility Index (WSI)

The WAI and WSI were determined in triplicate according to the method described by Anderson et al. [60]. Briefly, 2.5-g samples were weighed, placed in plastic tubes, mixed with 30 mL of distilled water at 30 °C, and shaken on a vortex mixer for 30 min. The resulting slurries were centrifuged



at  $3000 \times g$  for 15 min (Thermo IEC model CL3-R, Waltham, MA, USA). The supernatant was decanted and evaporated at  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$  until dry. The residue from the supernatant and the sediment remaining in the tubes after decanting the supernatant were weighed. The ratio of the sediment-forming solids to the soluble solids was measured as g water/g sample.

### 3.5.2. Thermal Analysis

Thermal analysis by differential scanning calorimetry (DSC) was used to determine the gelatinization temperature and the enthalpy of starch gelatinization of the EAS, following the method used by Hasjim and Jane [13]. Two mg of EAS was placed in a pan with  $20\text{ }\mu\text{L}$  of distilled water. The pan was sealed hermetically; an empty pan was used as a reference. A calorimeter from TA Instruments (Q-200, Crawley, UK), with a program of 30 to  $150\text{ }^{\circ}\text{C}$  and a temperature ramp of  $10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$  was used. The obtained thermograms were analyzed with universal analysis software (TA Instruments, Crawley, UK) to determine the gelatinization temperature ( $T_g$ ) and gelatinization enthalpy ( $\Delta H$ ). Each measurement was performed twice.

### 3.5.3. Resistant Starch (RS) Content

The RS content was determined using an enzymatic kit (Megazyme, Wicklow, Ireland) and the enzymatic method used by Goñi et al. [61], which is based on the AOAC method 2002.02 [57].

### 3.5.4. Rheological Properties

The rheological properties ( $G'$ ,  $G''$ , and  $\tan \delta$ ) were determined using a rheometer (TA Instruments AR 2000EX, Crawley, UK). Starch slurry containing 10% solids was used. According to the moisture content of each sample, a volume of water was added gradually, and the mixture was stirred in a beaker until a semifluid mass was obtained. The instrument was equipped with stainless steel parallel-plate geometry (40 mm diameter). The sample was covered completely with the plate, and excess sample was eliminated. All measurements were carried out at  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  and a 1000-micron gap. To determine the linear viscoelastic region, strain amplitude sweeps were run from 0.1% to 5% at a frequency value of 1 Hz. The analyzed samples presented similar response with 2% strain. The flow sweep was performed at a shear rate ( $\dot{\gamma}$ ) of 0.1 to 15 1/s thereby relating shear stress ( $\sigma$ ) and shear rate ( $\dot{\gamma}$ ) to calculate the apparent viscosity ( $\eta$ ) using Herschel Bulkley model [62] at shear rate value of 1 1/s. Oscillatory tests were performed at  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  over the frequency range of 0.1–100 Hz, with strain amplitude constant of 2% for all samples. The comparison between treatments was carried out at 2.51 Hz where  $\Delta \tan$  presented a constant behavior [63,64]. Using the above approach, it was possible to determine the dynamic storage shear modulus ( $G'$ ), the loss shear modulus ( $G''$ ), and  $\tan \delta$  (i.e.,  $G''/G'$ ).

### 3.5.5. Scanning Electron Microscopy

The EBS and EAS samples, whose particle sizes  $<0.15\text{ mm}$  and whose moisture contents were 1%, were stuck to stubs and coated with a gold layer under high vacuum in a Denton vacuum evaporator (Desk II) set to  $7.031 \times 10^{-2}\text{ kg}/\text{cm}^2$ . The samples were examined using a scanning electron microscope (JSM-5800LV, JEOL, Akishima, Japan) equipped with a secondary electron detector operated at an acceleration rate of 10 kV.

### 3.6. Experimental Design and Statistical Analysis

A second-order, three-variable, five-level, central-composite design was used, resulting 20 treatments, which axial and central points were done by duplicate. The results were analyzed using

response surface methodology [65]. The feed moisture content, extrusion temperature, and screw speed were independent variables. The fitted second-order polynomial is given by:

$$Y_i = b_0 + \sum_{j=1}^3 b_j X_j + \sum_{j=1}^3 b_{jj} X_j^2 + \sum_{j=1}^2 \sum_{k=j+1}^3 b_{jk} X_j X_k, \quad (1)$$

where  $Y_i$  is the predicted response,  $X_i$  and  $X_j$  are the input variables,  $b_0$ ,  $b_i$ ,  $b_{ii}$ ,  $b_{ij}$  are regression coefficients of the intercept, linear effects, squared effects, and interactions respectively. The variable combination is shown in Table 7. Analysis of variance, regression, and canonical analysis for the nature of the response variable were performed on Design Expert software v. 6.01 (Stat-Ease Inc. 2001, Minneapolis, MN, USA) and Minitab Release 14.1 software (Minitab Inc., State College, PA, USA). Significant differences were defined as ( $p < 0.05$ ).

Table 7. Process variables and levels used in the experimental design.

Process Variables	Levels				
	−2	−1	0	+1	+2
Extrusion temperature (°C)	90	100	110	120	130
Moisture content (%)	20	25	30	35	40
Screw speed (rpm)	200	240	280	320	360

#### 4. Conclusions

Extrusion is an alternative method of producing RS. The starch moisture content and the extrusion temperature significantly changed the physical properties of the native cornstarch by increasing the WAI and WSI and decreasing the viscosity and enthalpy because of the ECP-induced damage in the starch. The EAS previously extruded at 120 °C and a screw speed of 240 rpm from starch containing 35% moisture contained the most RS (1.134 g/100 g). Despite not generating high RS content, the ECP produced 68% more RS than that which naturally occurs in native cornstarch with the added advantages of the ECP being a high-productivity, faster, energy-efficient, continuous process.

**Acknowledgments:** The authors acknowledge the, Universidad Autónoma de Nuevo León, Universidad Autónoma de Chihuahua and the Centro de Biotecnología-FEMSA of the Tecnológico de Monterrey for supporting the project. This paper is based on the postgraduate studies of Neder-Suarez, who was supported by a doctoral scholarship from the Science and Technology National Council of Mexico (CONACYT).

**Author Contributions:** D.N.-S. designed and led the research and wrote the paper. A.Q.-R. and C.A.A.-G. designed the research and collaborated to write the paper. E.P.-C. collaborated in the extrusion experiments. M.G.d.J.A.-G. collaborated in the experimental phase research. J.G.B.-G. collaborated in the experimental phase research. C.L.G.-D. collaborated in the experimental phase research. M.A.N.-G. collaborated in the experimental phase research. D.L.-G. collaborated in the experimental phase research. J.A.J.-C. collaborated in the experimental design planning.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

#### Abbreviations

EBS, Extrusion before storage; EAS, Extrusion after storage for 120 h at 4 °C; ECP, Extrusion-cooking process;  $G'$ —loss modulus;  $G''$ —storage modulus;  $\eta$ —apparent viscosity; RS—Resistant starch; WAI—water absorption index; WSI—water solubility index;  $T_g$ —gelatinization temperature;  $\Delta H$ —enthalpy.

#### References

1. Lopez-Rubio, A.; Htoon, A.; Gilbert, E.P. Influence of extrusion and digestion on the nanostructure of high-amylose maize starch. *Bimonthly* **2007**, *8*, 1564–1572. [CrossRef] [PubMed]
2. Witczak, M.; Ziobro, R.; Juszczak, L.; Korus, J. Starch and starch derivatives in gluten-free systems. *J. Cereal Sci.* **2016**, *67*, 46–57. [CrossRef]

3. Englyst, H.N.; Kingman, S.M.; Cummings, J.H. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *Eur. J. Clin. Nutr.* **1996**, *46*, S33–S50.
4. Haralampu, S.G. Resistant starch—A review of the physical properties and biological impact of RS 3. *Carbohydr. Polym.* **2000**, *41*, 285–292. [CrossRef]
5. Kim, J.H.; Tanhehco, E.J.; Ng, P.K.W. Effect of extrusion conditions on resistant starch formation from pastry wheat flour. *Food Chem.* **2006**, *99*, 718–723. [CrossRef]
6. Perera, A.; Meda, V.; Tyler, R.T. Resistant starch: A review of analytical protocols for determining resistant starch and of factors affecting the resistant starch content of foods. *Food Res. Int.* **2010**, *43*, 1959–1974. [CrossRef]
7. Thompson, D.B. Strategies for the manufacture of resistant starch. *Trends Food Sci. Technol.* **2000**, *11*, 245–253. [CrossRef]
8. Chung, H.J.; Hoover, R.; Liu, Q. The impact of single and dual hydrothermal modifications on the molecular structure and physicochemical properties of normal corn starch. *Int. J. Biol. Macromol.* **2009**, *44*, 203–210. [CrossRef] [PubMed]
9. Koksel, H.; Masatcioglu, T.; Kahraman, K.; Ozturk, S.; Basman, A. Improving effect of lyophilization on functional properties of resistant starch preparations formed by acid hydrolysis and heat treatment. *J. Cereal Sci.* **2008**, *47*, 275–282. [CrossRef]
10. Onyango, C.; Bley, T.; Jacob, A.; Henle, T.; Rohm, H. Influence of incubation temperature and time on resistant starch type III formation from autoclaved and acid-hydrolysed cassava starch. *Carbohydr. Polym.* **2006**, *66*, 494–499. [CrossRef]
11. Xie, X.S.; Liu, Q.; Cui, S.W. Studies on the granular structure of resistant starches (type 4) from normal, high amylose and waxy corn starch citrates. *Food Res. Int.* **2006**, *39*, 332–341. [CrossRef]
12. Song, D.; Thio, Y.S.; Deng, Y. Starch nanoparticle formation via reactive extrusion and related mechanism study. *Carbohydr. Polym.* **2011**, *85*, 208–214. [CrossRef]
13. Hasjim, J.; Jane, J.L. Production of Resistant Starch by Extrusion Cooking of Acid-Modified Normal-Maize Starch. *J. Food Sci.* **2009**, *74*, C556–C562. [CrossRef] [PubMed]
14. Dundar, A.N.; Gocmen, D. Effects of autoclaving temperature and storing time on resistant starch formation and its functional and physicochemical properties. *Carbohydr. Polym.* **2013**, *97*, 764–771. [CrossRef] [PubMed]
15. Nasrin, T.A.A.; Anal, A.K. Resistant starch III from culled banana and its functional properties in fish oil emulsion. *Food Hydrocoll.* **2014**, *35*, 403–409. [CrossRef]
16. Ozturk, S.; Koksel, H.; Ng, P.K. Production of resistant starch from acid-modified amylopectin starches with enhanced functional properties. *J. Food Eng.* **2011**, *103*, 156–164. [CrossRef]
17. Zhang, H.; Jin, Z. Preparation of products rich in resistant starch from maize starch by an enzymatic method. *Carbohydr. Polym.* **2011**, *86*, 1610–1614. [CrossRef]
18. Moad, G. Chemical modification of starch by reactive extrusion. *Prog. Polym. Sci.* **2011**, *36*, 218–237. [CrossRef]
19. Dust, J.M.; Gajda, M.A.; Flickinger, A.E.; Burkhalter, T.M.; Merchen, N.R.; Fahey, G.C., Jr. Extrusion conditions affect chemical composition and in vitro digestion of selected food ingredients. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 2989–2996. [CrossRef] [PubMed]
20. Faraj, A.; Vasanthan, T.; Hoover, R. The effect of extrusion cooking on resistant starch formation in waxy and regular barley flours. *Food Res. Int.* **2004**, *37*, 517–525. [CrossRef]
21. Stojceska, V.; Ainsworth, P.; Plunkett, A.; İbanoglu, Ş. The advantage of using extrusion processing for increasing dietary fibre level in gluten-free products. *Food Chem.* **2010**, *121*, 156–164. [CrossRef]
22. Agustiniño-Osornio, J.C.; González-Soto, R.A.; Flores-Huicochea, E.; Manrique-Quevedo, N.; Sánchez-Hernández, L.; Bello-Pérez, L.A. Resistant starch production from mango starch using a single-screw extruder. *J. Sci. Food Agric.* **2005**, *85*, 2105–2110. [CrossRef]
23. Gonzalez-Soto, R.A.; Sanchez-Hernandez, L.; Solorza-Feria, J.; Nunez-Santiago, C.; Flores-Huicochea, E.; Bello-Perez, L.A. Resistant starch production from non-conventional starch sources by extrusion. *Food Sci. Technol. Int.* **2006**, *12*, 5–11. [CrossRef]
24. Sarawong, C.; Schoenlechner, R.; Sekiguchi, K.; Berghofer, E.; Ng, P.K. Effect of extrusion cooking on the physicochemical properties, resistant starch, phenolic content and antioxidant capacities of green banana flour. *Food Chem.* **2014**, *143*, 33–39. [CrossRef] [PubMed]

25. Hagenimana, A.; Ding, X.; Fang, T. Evaluation of rice flour modified by extrusion cooking. *J. Cereal Sci.* **2006**, *43*, 38–46. [CrossRef]
26. Cieřla, K.; Eliasson, A.C. DSC studies of retrogradation and amylose–lipid complex transition taking place in gamma irradiated wheat starch. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. B* **2007**, *265*, 399–405. [CrossRef]
27. Van Hung, P.; Vien, N.L.; Phi, N.T.L. Resistant starch improvement of rice starches under a combination of acid and heat-moisture treatments. *Food Chem.* **2016**, *191*, 67–73. [CrossRef] [PubMed]
28. Mun, S.H.; Shin, M. Mild hydrolysis of resistant starch from maize. *Food Chem.* **2006**, *96*, 115–121. [CrossRef]
29. Waduge, R.N.; Hoover, R.; Vasanthan, T.; Gao, J.; Li, J. Effect of annealing on the structure and physicochemical properties of barley starches of varying amylose content. *Food Res. Int.* **2006**, *39*, 59–77. [CrossRef]
30. Wandee, Y.; Puttanlek, C.; Rungsardthong, V.; Pancha-arnon, S.; Uttapap, D. Effects of gelatinization and gel storage conditions on the formation of canna resistant starch. *Food Bioprocess. Technol.* **2012**, *5*, 2665–2673. [CrossRef]
31. Wang, Y.J.; Truong, V.D.; Wang, L. Structures and rheological properties of corn starch as affected by acid hydrolysis. *Carbohydr. Polym.* **2003**, *52*, 327–333. [CrossRef]
32. Vasanthan, T.; Gaosong, J.; Yeung, J.; Li, J. Dietary fiber profile of barley flour as affected by extrusion cooking. *Food Chem.* **2002**, *77*, 35–40. [CrossRef]
33. Hoover, R.; Manuel, H. The effect of heat–moisture treatment on the structure and physicochemical properties of normal maize, waxy maize, dull waxy maize and amylomaize V starches. *J. Cereal Sci.* **1996**, *23*, 153–162. [CrossRef]
34. Shi, M.M.; Gao, Q.Y. Physicochemical properties, structure and in vitro digestion of resistant starch from waxy rice starch. *Carbohydr. Polym.* **2012**, *84*, 1151–1157. [CrossRef]
35. González-Soto, R.A.; Mora-Escobedo, R.; Hernández-Sánchez, H.; Sánchez-Rivera, M.; Bello-Pérez, L.A. Extrusion of banana starch: Characterization of the extrudates. *J. Sci. Food Agric.* **2007**, *87*, 348–356. [CrossRef]
36. Wang, N.; Maximiuk, L.; Toews, R. Pea starch noodles: Effect of processing variables on characteristics and optimisation of twin-screw extrusion process. *Food Chem.* **2012**, *133*, 742–753. [CrossRef]
37. Zhu, L.J.; Shukri, R.; de Mesa-Stonestreet, N.J.; Alavi, S.; Dogan, H.; Shi, Y.C. Mechanical and microstructural properties of soy protein–high amylose corn starch extrudates in relation to physicochemical changes of starch during extrusion. *J. Food Eng.* **2010**, *100*, 232–238. [CrossRef]
38. Hernandez-Diaz, J.R.; Quintero-Ramos, A.; Barnard, J.; Balandran-Quintana, R.R. Functional properties of extrudates prepared with blends of wheat flour/pinto bean meal with added wheat bran. *Food Sci. Technol. Int.* **2007**, *13*, 301–308. [CrossRef]
39. Masatcioglu, M.T.; Yalcin, E.; Hwan, P.J.; Ryu, G.H.; Celik, S.; Koksels, H. Hull-less barley flour supplemented corn extrudates produced by conventional extrusion and CO<sub>2</sub> injection process. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **2014**, *26*, 302–309. [CrossRef]
40. Bhattacharya, S.; Sudha, M.L.; Rahim, A. Pasting characteristics of an extruded blend of potato and wheat flours. *J. Food Eng.* **1999**, *40*, 107–111. [CrossRef]
41. Rodríguez-Miranda, J.; Delgado-Licon, E.; Ramírez-Wong, B.; Solís-Soto, A.; Vivar-Vera, M.A.; Gómez-Aldapa, C.A.; Medrano-Roldán, H. Effect of moisture, extrusion temperature and screw speed on residence time, specific mechanical energy and psychochemical properties of bean flour and soy protein aquaculture feeds. *J. Anim. Prod. Adv.* **2012**, *2*, 65–73.
42. Singh, N.; Singh, J.; Kaur, L.; Sodhi, N.S.; Gill, B.S. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. *Food Chem.* **2003**, *81*, 219–231. [CrossRef]
43. Karim, A.A.; Norziah, M.H.; Seow, C.C. Methods for the study of starch retrogradation. *Food Chem.* **2000**, *71*, 9–36. [CrossRef]
44. Chanvrier, H.; Uthayakumaran, S.; Appelqvist, I.A.; Gidley, M.J.; Gilbert, E.P.; López-Rubio, A. Influence of storage conditions on the structure, thermal behavior, and formation of enzyme-resistant starch in extruded starches. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 9883–9890. [CrossRef] [PubMed]
45. Yadav, B.S.; Sharma, A.; Yadav, R.B. Resistant starch content of conventionally boiled and pressure-cooked cereals, legumes and tubers. *J. Food Sci. Technol.* **2010**, *47*, 84–88. [CrossRef] [PubMed]
46. Buckow, R.; Heinz, V.; Knorr, D. High pressure phase transition kinetics of maize starch. *J. Food Eng.* **2007**, *81*, 469–475. [CrossRef]

47. Lazaridou, A.; Biliaderis, C.G.; Izydorczyk, M.S. Molecular size effects on rheological properties of oat  $\beta$ -glucans in solution and gels. *Food Hydrocoll.* **2003**, *17*, 693–712. [CrossRef]
48. Alamri, M.S.; Mohamed, A.A.; Hussain, S. Effects of alkaline-soluble okra gum on rheological and thermal properties of systems with wheat or corn starch. *Food Hydrocoll.* **2013**, *30*, 541–551. [CrossRef]
49. Jongsutjarittam, O.; Charoenrein, S. The effect of moisture content on physicochemical properties of extruded waxy and non-waxy rice flour. *Carbohydr. Polym.* **2014**, *114*, 133–140. [CrossRef] [PubMed]
50. Parada, J.; Aguilera, J.M.; Brennan, C. Effect of guar gum content on some physical and nutritional properties of extruded products. *J. Food Eng.* **2011**, *103*, 324–332. [CrossRef]
51. Fannon, J.E.; Hauber, R.J.; BeMiller, J.N. Surface pores of starch granules. *Cereal Chem.* **1992**, *69*, 284–288.
52. Reddy, C.K.; HariPriya, S.; Mohamed, A.N.; Suriya, M. Preparation and characterization of resistant starch III from elephant foot yam (*Amorphophallus paeonifolius*) starch. *Food Chem.* **2014**, *155*, 38–44. [CrossRef] [PubMed]
53. Martínez-Bustos, F.; Chang, Y.K.; Bannwart, A.C.; Rodriguez, M.E.; Guedes, P.A.; Gaiotti, E.R. Effects of calcium hydroxide and processing conditions on corn meal extrudates. *Cereal Chem.* **1998**, *75*, 796–801. [CrossRef]
54. Gill, S.; Vasanthan, T.; Ooraikul, B.; Rossnagel, B. Wheat bread quality as influenced by the substitution of waxy and regular barley flours in their native and extruded forms. *J. Cereal Sci.* **2002**, *36*, 219–237. [CrossRef]
55. Quintero-Ramos, A.; Bourne, M.; Barnard, J.; Gonzalez-Laredo, R.; Anzaldúa-Morales, A.; Pensaben-Esquivel, M.; Maquez-Melendez, R. Low temperature blanching of frozen carrots with calcium chloride solutions at different holding times on texture of frozen carrots. *J. Food Process. Preserv.* **2002**, *26*, 361–374. [CrossRef]
56. Gómez-Moriél, C.B.; Quintero-Ramos, A.; Camacho-Dávila, A.; Ruiz-Gutiérrez, M.G.; Talamás-Abbud, R.; Olivas-Vargas, R.; Barnard, J. Optimization of chipotle pepper smoking process using response surface methodology. *J. Food Qual.* **2012**, *35*, 21–33. [CrossRef]
57. AOAC. *International Official Methods of Analysis*; AOAC: Gaithersburg, MD, USA, 1998.
58. Cortés-Ceballos, E.; Pérez-Carrillo, E.; Serna-Saldívar, S.O. Addition of Sodium Stearoyl Lactylate to Corn and Sorghum Starch Extrudates Enhances the Performance of Pregelatinized Beer Adjuncts. *Cereal Chem.* **2015**, *92*, 88–92. [CrossRef]
59. Ruiz-Gutiérrez, M.G.; Amaya-Guerra, C.A.; Quintero-Ramos, A.; Pérez-Carrillo, E.; Ruiz-Anchondo, T.D.J.; Báez-González, J.G.; Meléndez-Pizarro, C.O. Effect of extrusion cooking on bioactive compounds in encapsulated red cactus pear powder. *Molecules* **2015**, *20*, 8875–8892. [CrossRef] [PubMed]
60. Anderson, R.A.; Conway, H.F.; Pfeifer, V.F.; Griffin, E.L. Gelatinization of corn grits by roll-and extrusion-cooking. *Cereal Sci. Today* **1969**, *14*, 4–7.
61. Goñi, I.; Garcia-Diaz, L.; Mañas, E.; Saura-Calixto, F. Analysis of resistant starch: A method for foods and food products. *Food Chem.* **1996**, *56*, 445–449. [CrossRef]
62. Rao, M.A. *Rheology of Fluid and Semisolid Foods: Principles and Applications*; Springer Science & Business Media: New York, NY, USA, 2010; pp. 30–35.
63. Mendez-Montealvo, G.; Sánchez-Rivera, M.M.; Paredes-López, O.; Bello-Perez, L.A. Thermal and rheological properties of nixtamalized maize starch. *Int. J. Biol. Macromol.* **2006**, *40*, 59–63. [CrossRef] [PubMed]
64. Wang, B.; Wang, L.J.; Li, D.; Özkan, N.; Li, S.J.; Mao, Z.H. Rheological properties of waxy maize starch and xanthan gum mixtures in the presence of sucrose. *Carbohydr. Polym.* **2009**, *77*, 472–481. [CrossRef]
65. Meyer, R.H. *Response Surface Methodology*; Allen and Bacon: Boston, MA, USA, 1971; pp. 126–175.

**Sample Availability:** Samples of the treatments are available from the authors.



© 2016 by the authors; licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC-BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Anexo 2  
Portada Tesis y Acta de Examen de Grado

## Portada Tesis de Grado

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO



EFFECTO DE LA EXTRUSIÓN-COCCIÓN EN LA FORMACIÓN DE ALMIDÓN  
RESISTENTE Y SU APLICACIÓN EN EL DESARROLLO DE PRODUCTOS CON  
EFFECTO HIPOGLUCEMIANTE

TESIS

Presentada por:

M.C. DAVID NEDER SUÁREZ

QUE COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS CON ACENTUACION EN ALIMENTOS

MONTERREY, N.L.

FEBRERO 2017



## Acta de Examen de Grado



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

En la ciudad de Monterrey, Capital del Estado de Nuevo León, a los 16 días del mes Junio del año 2017, siendo las 16 horas, reunidos en una de las Aulas de la Facultad de CIENCIAS BIOLÓGICAS, de la Universidad Autónoma de Nuevo León, los señores: Dr. Carlos Abel Araya Guerra, Dr. Jon Gabriel Baez Gonzalez, Dra. Ma. Guadalupe Abnis Guzmán, Dr. Carlos Leonel Garcia, Dra. Maria Adriana Uribe Gonzalez Catedráticos de la misma, quienes fueron designados por la Dirección de la Facultad, para integrar el Jurado Calificador del Examen de DOCTOR EN CIENCIAS

de Sr. David Pedro Suarez quien sustentó la defensa de su tesis titulada Efecto de la Extrusión-cocción en la formación de almidón resistente y su aplicación en el desarrollo de productos con efecto hipoglucémico tal como lo disponen, la Ley Orgánica de la Universidad Autónoma de Nuevo León, publicada en el Periódico Oficial de fecha siete de junio de mil novecientos setenta y uno el Reglamento General de la Universidad y el Reglamento de la Dirección General de Estudios de Post-Grado, el Reglamento del DOCTORADO de la Facultad. Se procedió a iniciar dicho Examen Doctoral, en forma de disertación pública en privado. Previa deliberación del Jurado sobre la disertación de los antecedentes académicos y curriculares del sustentante, se comunicó a Sr. que fue Aprobado con la calificación Cum laude por lo que se determinó otorgarle el Grado de DOCTOR EN CIENCIAS con Acentuación en Alimentos

Con lo que se terminó el acto, y en cumplimiento de lo dispuesto por los preceptos legales y reglamentario, firman la presente acta los señores Sinodales, ante la presencia del Secretario del Jurado, que da fe.

Acta Núm. 1463



PRESIDENTE

*[Signature]*

Dr. Carlos Abel Araya Guerra

SECRETARIO

*[Signature]*

Dr. Jon Gabriel Baez Gonzalez

1er. VOCAL

*[Signature]*  
Dra. Ma. Guadalupe Abnis Guzmán

2do. VOCAL

*[Signature]*

Dr. Carlos Leonel Garcia

3er. VOCAL

*[Signature]*

Dra. Maria Adriana Uribe Gonzalez

El suscrito Director de la Facultad de CIENCIAS BIOLÓGICAS, CERTIFICA que las firmas que aparecen en la presente acta, son auténticas y las mismas que utilizan los C.C. Profesores mencionados en ella.

Monterrey, N.L. a 16 de Junio de 2017.

Director externo

*[Signature]*  
Dr. Armando Quiñero Ramos

EL DIRECTOR