



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**“VARIACIÓN DE LA FUERZA DE PUNCIÓN EN LAS SEMILLAS
DE GARBANZO (*Cicer arietinum* L.) IMBIBIDAS CON UNA
SOLUCIÓN REBLANDECEDORA Y SU EFECTO EN LA
BIRREFRINGENCIA Y MICROESTRUCTURA
DE LOS CUERPOS ALMIDONOSOS”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

F I S I C O

P R E S E N T A:

SILVIA FLOR DE AZALIA MONROY SALAZAR

Tutora: DRA. CLARA ESQUIVEL HUESCA



2006



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

1. Datos del alumno

Monroy
Salazar
Silvia Flor de Azalia
55828341
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Física
096229042

2. Datos del tutor

Dra
Clara
Esquivel
Huesca

3. Datos del sinodal 1

M en C
Alicia
Zarzosa
Pérez

4. Datos del sinodal 2

Dra
Corina
Solís
Rosales

5. Datos del sinodal 3

Dra
Alma Delfina Lucía
Orozco
Segovia

6. Datos del sinodal 4

Dra
María Isabel
Gamboa
De Buen

7. Datos del trabajo escrito

Variación de la fuerza de punción en las semillas de garbanzo (Cicer arietinum
L.) imbibidas con una solución reblandecedora y su efecto en la birrefringencia
y microestructura de los cuerpos almidonosos

33 p
2006

Agradezco profundamente el apoyo de mis padres, que hicieron lo posible por apoyarme, por darme una educación y cariño. Gracias mama por escucharme, estar conmigo en momentos difíciles y sobre todo por confiar en mí, gran parte de este trabajo fue realizado gracias a ti por ayudarme a levantar mi ánimo y hecharme porras.

Pelonchas mil gracias por tu apoyo, gracias a ti este trabajo se ha realizado, eres mi sensei, mi obi wuan caguama!. En serio muchas gracias por todo tu apoyo incondicional, espero poder compartir este y otros mas logros a lo largo de nuestras vidas. Eres una persona muy importante en mi vida y quiero dedicar especialmente mi trabajo a ti pues estuviste en los momentos y lugares adecuados para ayudarme en muchas cosas. Por último quiero recordarte que eres my miracle drug! Te quiero mucho.

A mis maestras Alicia y Clara por apoyarme y ayudarme. Maestra Alicia gracias por sus consejos, pláticas y confianza, se que esta por demás decirlo pero es una persona muy valiosa, me inspiró mucho la confianza que tiene sobre si misma y su fortaleza, es un placer conocerla. Maestra Clarita gracias por su ayuda, apoyo y sobre todo por su confianza en mi, fue una experiencia muy agradable trabajar con usted, también gracias por motivarme y sus consejos los tengo muy en cuenta.

A mis amig@s Blancuquis, Claus, Ismene, Ezequiel, Mauricio, Marquiño, Erik, Robert, Hectorin, Sergio, Orlando, Není. De verdad han marcado mucho mi vida pues gracias a Blanca y Mauricio por ejemplo he aprendido que la vida no es color de rosa, que tiene muchos colores y matices, sin embargo no por eso no se disfruta e incluso es mas hermosa. Claudia, Ismene y Ezequiel me han enseñado que no importa el momento ni el lugar que siempre hay una mano amiga con la cual apoyarte. Marco me has demostrado también que ser un gran amigo no implica estar juntos todo el tiempo, sino la calidad cuando estamos juntos.

Erik gracias por confiar en mi y por tu apoyo incondicional son tantas cosas que me has enseñado que no acabaría, solo te puedo decir que tienes también mi apoyo y que decir de mi confianza en ti espero verte pronto también de este lado.

Robert que te puedo decir has estado conmigo en muchas etapas y circunstancias en mi vida, eres un amigo al cual aprecio mucho y que tengo presente cada día de mi vida aunque ya casi no te vea, gracias por ser mi cuate.

Héctor, Sergio, Orlando y Není gracias por su compañía y gracia durante la carrera, era muy agradable estar en la oficina y como olvidar los torneos.

Y como digo siempre. Cuando naciste todos reían y tu llorabas, VIVE TU VIDA para cuando MUERAS todos lloren y tu ... SONRIAS.

Gracias a la Dra. Judith Márquez Guzmán por haber permitido la utilización de su laboratorio para obtener las muestras utilizadas en este trabajo.

Gracias a la M. en C. Ana Isabel Antolin Bieler por haber ayudado a obtener la micrografías para este trabajo.

Y gracias al taller por su ayuda a la fabricación del Punzómetro que se utilizó para la realización de este trabajo.

GRACIAS A LA VIDA

Gracias a la vida, que me ha dado tanto
Me dió dos luceros que, cuando los abro,
perfecto distingo lo negro del blanco,
y en el alto cielo su fondo estrellado,
y en las multitudes el hombre que yo amo

Gracias a la vida, que me ha dado tanto
Me ha dado el oído, que en todo su ancho
graba noche y día; grillos y canarios
martillos, turbinas, chubascos
y la voz tan tierna de mi enamorado

Gracias a la vida, que me ha dado tanto
Me ha dado el sonido y el abecedario,
con las palabras que pienso y declaro:
madre, amigo, hermano y luz, alumbrando
la ruta del alma del que estoy amando

Gracias a la vida, que me ha dado tanto
Me ha dado la marcha de mis pies cansados;
con ellos anduve ciudades y charcos,
playas y desiertos, montañas y llanos,
y la casa tuya, tu calle y tu patio

Gracias a la vida, que me ha dado tanto
Me dió el corazón, que agita su marco
cuando miro el fruto del cerebro humano,
cuando miro el bueno tan lejos del malo,
cuando miro el fondo de tus ojos claros

Gracias a la vida, que me ha dado tanto
Me ha dado la risa y me ha dado el llanto;
así yo distingo dicha de quebranto,
los dos materiales que forman mi canto
y el canto de ustedes, que es el mismo canto,
y el canto de todos, que es mi propio canto.

Violeta Parra

CONTENIDO

Resumen.....	1
I Introducción.....	1
II Objetivo (s).....	2
III Antecedentes.....	3
1) Las semillas.....	3
A) Las semillas en la alimentación.....	3
2) El garbanzo.....	3
3) Características que se toman en cuenta para el consumo de las semillas:.....	4
A) Calidad.....	4
B) Dureza.....	4
C) Imbibición-Reblandecimiento.....	6
D) Cocción.....	8
E) Palatabilidad.....	8
4) Fenómenos Físicos en la Microscopía de Polarización.....	8
A) Microscopio de Polarización.....	8
B) Polarización de la luz.....	12
C) Birrefringencia.....	13
IV Material y Métodos.....	14
V Resultados.....	17
VI Discusión.....	26
VII Conclusiones.....	28
VII Bibliografía.....	29

RESUMEN

Se midieron las fuerzas de punción de las semillas de garbanzo (*Cicer Arietinum* L.) cultivar blanco Los Mochis 1993, para este propósito fue necesario diseñar un aparato el cual fue denominado PUNZÓMETRO. Las fuerzas de punción fueron determinadas en semillas imbibidas en agua destilada, testigos (T) y con una solución salina reblandecedora, experimentales (E) a diferentes tiempos: 3, 6, 12 y 24h. Se determinaron los cambios de la morfología de: los cuerpos almidonosos de las células de garbanzo, con microscopia fotónica de Campo Claro y su variación en la polarización en el Microscopio de Polarización y también las variaciones en las paredes celulares, esquinas entre las células contiguas y cuerpos proteicos usando la microscopia fotónica de campo claro. Los resultados obtenidos de las fuerzas de punción en T fueron: para 3h 22.6 +/- 0.5 N, 6h 18.5 +/-0.8 N, 12h 17.6 +/- 0.5 N y 24h 17.78 +/- 0.8 N. Para E fueron: 3h 20.25 +/- 0.8 N, 6h 20.67 +/- 0.5 N, 12h 18.67 +/-0.5 N y en 24h 16.6 +/-0.7 N. Los resultados mostraron que es mejor el reblandecimiento con Solución Salina (E) que con agua destilada (T) ya que fue más rápido el decaimiento de la fuerza de punción. Y que el reblandecimiento también afecta a los gránulos de almidón, lo que se observó en el cambio del comportamiento de la luz polarizada en éstos.

I INTRODUCCIÓN

Algunas semillas para el consumo humano pueden cocerse directamente pero otras no. La mayoría de los investigadores coincide en que deben de tener un remojo (imbibición) previo a la cocción para el reblandecimiento. Remojar las semillas antes de la cocción suaviza el grano y disminuye el tiempo de cocción (19, 43), esto tiene gran importancia que como consecuencia se obtiene un gran ahorro de energía tan necesario en estos tiempos de crisis. Los tiempos de cocción son determinados por diferentes métodos que pueden ser cualitativos o cuantitativos. Mattson en 1946 diseñó un aparato para medir los tiempos de cocción basándose en la fuerza de punción de agujas con un

contrapeso, estas agujas se ponen sobre las semillas y cuando éstas ya se han cocido las agujas las atraviesan (32). El cocinador Mattsson mide indirectamente la dureza o reblandecimiento de las semillas, pero es necesario también medir éstos parámetros antes de la cocción, es decir durante la imbibición, para verificar si realmente ocurre el reblandecimiento a través de este proceso. Para que las semillas se reblandezcan influyen varios factores: primero que la semilla pueda hidratarse; esto produce cambios en los componentes de las células cotiledonarias que son indicadores de la dureza o el reblandecimiento. Se ha observado que los cuerpos almidonosos cambian su morfología durante el remojo: al imbibirse aumenta su volumen y son de forma oval, dentro de sus características físicas los cuerpos almidonosos muestran patrones de interferencia con la luz polarizada y en el microscopio de polarización se observan cruces de malta de éstos gránulos. Como ya se mencionó, durante la imbibición hay cambios en la morfología, seguramente debido a cambios físicos y químicos pero no ha sido bien determinado, por lo que es necesario hacer estudios de éste tipo y medir si realmente hay un reblandecimiento previo a la cocción y también existe la duda de que si este reblandecimiento es progresivo. Por lo tanto el propósito principal de éste trabajo fue tratar de esclarecer éstas dudas.

II OBJETIVO

El objetivo de ésta investigación es determinar la variación de la fuerza de punción en las semillas de garbanzo (*Cicer arietinum L*) imbibidas con una solución salina, y el efecto que causa el reblandecimiento en la birrefringencia y en la microestructura de los cuerpos almidonosos

III ANTECEDENTES

1) Las semillas

La semilla se origina de un óvulo fertilizado, desde el punto de vista biológico es un embrión y sus reservas (43), que en condiciones ambientales favorables germina reanudando su crecimiento y brota de la tierra como una planta joven o plántula, repitiéndose así un ciclo vital (4).

A) Las semillas en la alimentación.

En la alimentación humana, se aprovechan muy pocas especies de legumbres: alrededor de 20 en forma importante y menos de una docena de manera generalizada (9). Las especies más conocidas son el frijol común, el garbanzo, la lenteja, el chícharo, el haba, el cacahuete, la soya, el ayocote y la alfalfa. Según la especie de la legumbre se puede ingerir las vainas inmaduras (ejotes), las semillas inmaduras o maduras, las hojas, los tallos, las flores y hasta las raíces (32). El hombre aprovecha diversas partes de las leguminosas para su alimentación. Aunque la modalidad que representa los mayores volúmenes es el consumo de las semillas maduras (secas), entre ellas el garbanzo (*Cicer arietinum* L.), de acuerdo con las características de cada especie también se utilizan otras partes de la planta (23 y 27).

2) El garbanzo

El garbanzo es una semilla seca, por cada 100 gramos de semillas otorga 370 Kcal, 19 g de proteína, 6.2 g de lípidos, 61 gramos de hidratos de carbono y 3.4 de fibra cruda, contiene aminoácidos como Leucina, Lisina y aminoácidos aromáticos. La característica bromatológica que permite clasificar juntas a las semillas maduras de las leguminosas y de las oleaginosas para formar así un solo grupo, es su elevada concentración de proteínas (27).

El garbanzo además contiene almidón que es un polisacárido, una sustancia que se obtiene exclusivamente de los vegetales que lo sintetizan a partir del dióxido de carbono que toman de la atmósfera y del agua que toman del suelo (31), está formado por una mezcla de dos sustancias, amilosa y amilopectina,

que sólo difieren en su estructura: la forma en la que se unen las unidades de glucosa entre si para formar las cadenas (3).

El garbanzo común es nativo de las costas mediterráneas y su cultivo es importante. La planta es anual y alcanza hasta 60 cm de altura. Las semillas tienen una forma esférica, debido al grosor de los dos cotiledones que la forman. Contiene gran cantidad de proteínas, hidratos de carbono, fosfatos, calcio y vitaminas del grupo B, aunque su valor nutritivo, como el de todas las leguminosas, decrece con el tiempo. Crece óptimamente a temperaturas cálidas y produce buenos resultados en terrenos de seca sin depender de la profundidad que alcanzan sus raíces , en estaciones lluviosas suelen reducir la productividad debido a la aparición de enfermedades y un crecimiento excesivo de la vegetación. Donde se da mejor es en suelos arenosos bien drenados (12).

Para su consumo el garbanzo debe ser previamente imbibido (remojado) y después cocido. Durante este tratamiento térmico ocurren cambios estructurales en las semillas ya que dicho tratamiento separa las células y disminuye la rigidez de la semilla (5). En el citoplasma las células se desnaturalizan, facilitando la gelatinización de los gránulos de almidón (46). Estos cambios fisicoquímicos se reflejan en el reblandecimiento de la semilla, la pérdida de toxicidad y sabor agradable para su ingestión.

3) Características que se toman en cuenta para el consumo de las semillas

A) Calidad

La calidad de las semillas es determinada por métodos de evaluación internacionales y podrían resumirse como sigue (9): las propiedades que determinan la calidad de las semillas de uso agrícola son principalmente la viabilidad y el vigor, mientras que su calidad alimenticia la determinan su tiempo de cocción y su valor nutritivo (36 y 37).

B) Dureza

El endurecimiento o dureza va a depender de la humedad, la temperatura y el tiempo de almacenamiento (20). El fenómeno del endurecimiento (hard to cook)

en las semillas se presenta cuando éstas son almacenadas a altas humedades y temperatura, se puede presentar desde el mes y medio hasta los tres meses de almacenamiento. Existe otro tipo de dureza en las semillas pero éste es debido a que presentan una cubierta o testa dura (hard to shell), por lo que algunas veces es permeable al agua y éste término a veces se confunde con el término anterior (44). El almidón es uno de los compuestos químicos que en el almacenamiento se modifican. La dureza es una característica importante, determina si es aceptable para el consumo humano del Garbanzo (7).

La dureza se mide por procedimientos físicos, tomando en cuenta esto dureza se define físicamente como la capacidad que tiene un material de soportar esfuerzos sin deformarse permanentemente (14). En una interpretación más específica, puede entenderse por dureza la resistencia superficial de un cuerpo sometido a un esfuerzo fuertemente localizado. Hay diversas formas de medir la dureza, si bien la mayoría consiste en utilizar un pequeño indentador, es decir, un dispositivo que trata de penetrar el material, que puede ser un pequeño balín o una aguja. La dureza viene expresada en kp/cm^2 (unidad de fuerza aplicada a un área determinada) de carga necesaria para hacer penetrar completamente en la madera una semiesfera de acero cuya sección diametral tiene una superficie de 1 cm^2 (40).

Bundy y Kramer en 1954 usaron la cámara de Presión para determinar la calidad y grados de frescura de frijoles verdes (26).

Después en 1959 Kramer y Hart usaron la cámara de presión para medir la dureza y congelamiento de frijoles y concluyeron que si se puede medir madurez mediante la cámara de presión. Neumann y otros (1960) usaron el mismo procedimiento para medir la dureza de sus cultivos (44).

Dureza Brinell: Emplea como punta una bola de acero. Para materiales duros, es poco exacta.

Dureza Rockwell: Se utiliza como punta un cono de diamante (en algunos casos bola de acero). Es la más extendida, ya que la dureza se obtiene por

medición directa y es apta para todo tipo de materiales. Se suele considerar un ensayo no destructivo por el pequeño tamaño de la huella.

Existe una variante del ensayo, llamada Rockwell superficial, para la caracterización de piezas muy delgadas, como cuchillas de afeitado o capas de materiales que han recibido algún tratamiento de endurecimiento superficial.

Dureza Webster: Emplea máquinas manuales en la medición, siendo apto para piezas de difícil manejo como perfiles largos extruidos. El valor obtenido se suele convertir a valores Rockwell.

Dureza Vickers: Emplea como penetrador un diamante con forma de pirámide cuadrangular.

Para materiales blandos, los valores Vickers coinciden con los de la escala Brinell (34 y 45).

C) Imbibición-Reblandecimiento

La imbibición (remojo) es el proceso mediante el cual las semillas empiezan a adquirir agua al sumergirlas. Este procedimiento lo efectúa tanto el ama de casa como el industrial con el propósito de lograr la suavización o reblandecimiento para reducir los tiempos de cocción (11), y el consumo de energía (leña, gas, energía eléctrica, etc.) (8).

Este proceso sirve para obtener una textura agradable para el consumidor y una mejoría en las características nutricionales. Remojar y cocinar son las formas tradicionales de procesamiento. Durante la imbibición la semilla se hidrata y para esto el agua tiene que atravesar barreras naturales como: la cubierta o testa y como anexos de ésta, el hilo, el micrópilo; y luego entrar a los cotiledones desde la epidermis hasta el centro de éstos. Los componentes de las células cotiledonarias son la pared celular, la membrana, los cuerpos almidonosos o gránulos de almidón y los cuerpos protéicos, entre otros pero éstos son los que me interesan. La hidratación modifica los componentes de la pared celular así como también produce cambios en los cuerpos protéicos y los

cuerpos almidonosos. El uso de soluciones que contienen sales se han empleado como un método para producir rápida cocción en semillas de frijol (18,19,28 y 30) y en garbanzo (16, 22).

Rockland y Metzler (1967) utilizaron una solución de sales de sodio, logrando reducir aún más los tiempos de cocción. Ésta es una solución compuesta de cloruro de sodio, bicarbonato de sodio, carbonato de sodio y tripolifosfato de sodio empleada desde 1967 por dichos investigadores para reblandecer distintas semillas (21 y 41). La explicación del por que se produce el reblandecimiento la tratan estos autores diciendo que, los iones de sodio (monovalentes) sustituyen a los iones de calcio y magnesio (divalentes), que se encuentran en las paredes celulares, esto produce desestabilización y por lo tanto reblandecimiento. La solución salina no solamente afecta a las paredes celulares, también modifica la microestructura de la testa (cubierta de la semilla), de las células cotiledonarias y en éstas se afecta a los cuerpos protéicos y a los cuerpos almidonosos en su morfología y distribución (22).

Estudios hechos en arroz blanco (1993) han mostrado que ocurre la gelatinización de los almidones durante la adquisición del agua (imbibición) (29). Esta es mas acentuada durante el tratamiento térmico (la cocción) (1, 2, 48). Esto también se ha observado en la nixtamalización del maíz (6).

Las moléculas del agua forman una capa sobre la cubierta de las semillas y pasan a través de ésta hacia el interior de los cotiledones. Mientras que las moléculas del agua atraviesan la cubierta simultáneamente reacciona con los gránulos de almidón, si la temperatura de gelatinización es baja, el producto de la reacción es el hinchamiento de los gránulos de almidón. Si la temperatura de gelatinización es alta, el producto es la gelatinización de los almidones (24). Se han hecho análisis de los gránulos de almidón de garbanzo, determinando su reacción con agua a diferentes temperaturas, después de éste tratamiento térmico se observó la birrefringencia de los gránulos obtenidos de muestras previamente molidas en un molino de café, secadas a 45°C y suspendidas en agua-glicerol (1:1) para observarlas en el microscopio de polarización (39).

D) Cocción

La cocción es un tratamiento térmico al cual se someten las semillas para lograr su aceptación en la ingestión humana. Después de éste tratamiento las semillas deben cumplir con ciertas características como una textura adecuada, es decir ni muy blandas ni muy duras. Ésta característica es muy importante para la industria que produce semillas enlatadas (42).

Existen resultados de la microestructura del tratamiento térmico (cocción), en los que se ha mostrado que hay separación de las paredes celulares, disgregación y destrucción de los cuerpos protéicos y respecto a los cuerpos almidonosos, primero se observa hinchamiento, cambio de forma y coalescencia de varios gránulos a tal grado que pierden su integridad.

E) Palatabilidad

La palatabilidad es una característica determinada por el proceso de cocción y que podría explicarse como la aceptación de un producto por los consumidores, sometidos a una prueba de degustación.

En los incisos anteriores hemos tratado temas de importancia en el procesamiento de las semillas para su consumo, debido a que este estudio se relaciona con estos temas y en los siguientes trataremos temas relacionados con la microscopia de polarización usada en esta investigación.

4) Fenómenos Físicos en la Microscopía de Polarización

A) Microscopio de polarización

Esta técnica tiene muchas aplicaciones geológicas, para caracterizar materiales, y se puede usar para el estudio de otros materiales, incluyendo minerales naturales e industriales como cementos, cerámica, fibras minerales o polímeros y moléculas altamente ordenadas como el DNA y el almidón . La aplicación práctica en biología es algo limitada, puede ser determinada la estructura de granos de almidón o las fibras celulósicas de las paredes de células vegetales o la orientación de virus (56).

En el microscopio de polarización hay 2 filtros polarizadores, el polarizador y el analizador. El polarizador está situado debajo de la muestra (espécimen) usualmente se puede rotar su posición hasta 360°. El analizador, usualmente alineado de arriba hacia abajo, se sitúa encima del objetivo y puede ponerse y quitarse del camino de la luz (57). Los polarizadores pueden rotar los ejes hasta visualizar el objetivo. El rayo más rápido sale primero del espécimen con una diferencia de camino óptico (OPD). El analizador combina solo componentes de dos rayos viajando en la misma dirección y vibra en el mismo plano (**figura 1**). El polarizador asegura que esos dos rayos tienen la misma amplitud y máximo contraste.

En la microscopia de polarización están involucrados varios fenómenos físicos y para su comprensión trataremos los siguientes conceptos: luz, reflexión y refracción, polarización y birrefringencia.



Figura 1. Esquema de cómo viaja la luz en el microscopio de polarización.

Los cristales del sistema cúbico se dice que son óptimamente isótropos. Cada cristal cúbico tiene un sólo índice de refracción y los medios cristalinos de este tipo se comportan como materiales no cristalinos semejantes al vidrio. Otros cristales son óptimamente anisótropos. Los fenómenos que se observan

cuando en un cristal de éste último tipo penetra un haz de luz no polarizada dependen de la relación entre la dirección del haz y los ejes de simetría cristalina. Cuando el haz está polarizado en un plano, los efectos también dependen de la relación entre el plano de polarización y los ejes del cristal. En general, cuando un haz luminoso penetra un medio anisotrópico, se descompone en dos haces que se refractan en direcciones diferentes (13 y 30).

En un microscopio común ocurre que un rayo de luz apunta al observador, en éste microscopio se conseguirá que la propagación y la rotación del rayo de luz apunte al observador; el microscopio de polarización se basa en las propiedades ópticas de ciertas sustancias con un alto grado de orientación molecular (**figura 2**). En el microscopio de polarización se puede distinguir entre materiales isotrópicos y anisotrópicos, gracias a los índices de refracción que tiene el material y a que el microscopio los puede diferenciar. Puede utilizarse para estudios cualitativos como cuantitativos con especímenes más que nada anisotrópicos.

Los materiales isotrópicos, que incluyen gases y líquidos, vidrios y cristales muestran las mismas propiedades en todas direcciones. Solo tienen un índice de refracción y ninguna difracción en dirección de la luz que los traspasa. Los materiales anisotrópicos, tienen propiedades ópticas que varían con la orientación de la luz incidente con respecto a los ejes cristalográficos. Esto demuestra que los índices refractivos dependen tanto de la dirección de propagación de la luz que atraviesa la sustancia como del plano de vibración (53).



Figura 2. Se muestra como la luz de la lámpara apunta hacia el observador (54).

La microscopía de luz polarizada es un método muy útil para generar contrastes en la birrefringencia de especímenes a determinar aspectos cualitativos y cuantitativos de ejes cristalográficos presentes en varios materiales (55). Los colores de polarización son resultado de la interferencia entre 2 componentes, hechas por el espécimen anisotrópico (**figura 3**). Los dos componentes de la luz que viajan a diferentes velocidades atraviesan al espécimen y tienen diferentes índices de refracción o refringencias.

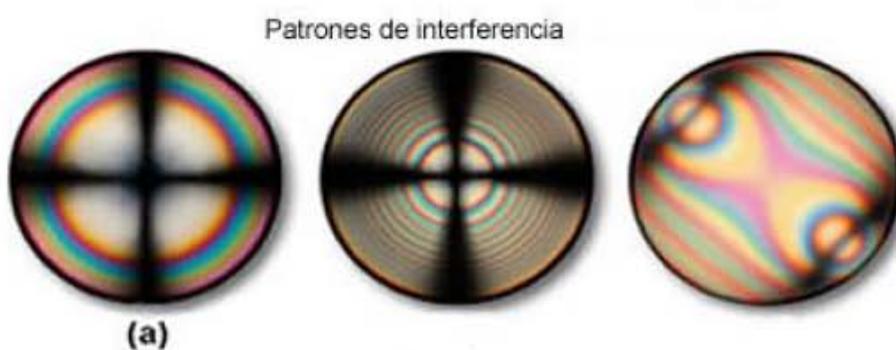


Figura 3. Patrones de interferencia. a) se le llama “cruz de malta”

B) Polarización de la luz

Para el manejo del microscopio de polarización se tiene que entender la luz polarizada que utiliza. En física se habla de la luz linealmente polarizada o polarizada en un plano (**figura 4**), es decir, donde la orientación del acampo eléctrico sea constante, aunque su magnitud y signo varían con el tiempo y de la luz polarizada, dos ondas de luz tales que las direcciones de sus campos eléctricos son perpendiculares entre sí.

La descripción de un haz paralelo de luz no polarizada es completa cuando se han estipulado la dirección de propagación, la amplitud, el grado de coherencia y la frecuencia. Se estipula que al plano en el cual se refleja con mayor intensidad el haz, en una superficie de vidrio sin platear se le da el nombre de *plano de polarización* (13).

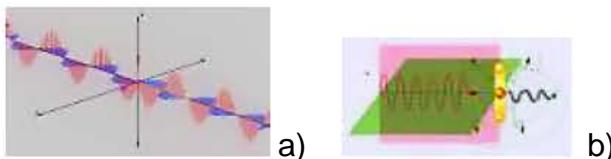


Figura 4. a) Luz monocromática, b) luz polarizada

Si la amplitud y la orientación varían de tal manera que el extremo del vector representativo recorre una elipse se dice que la luz está *polarizada elípticamente* (**figura 5**).

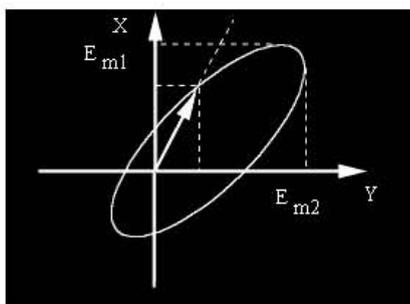


figura 5. polarización elíptica

Cuando se hagan iguales los dos ejes de la elipse, ésta se convierte en una circunferencia y se dice que la luz está *polarizada circularmente*. (**figura 6**)

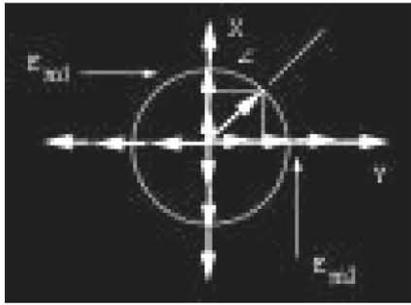


Figura 6. Polarización circular

Cuando sea nulo uno de los ejes, la elipse degenera en un segmento rectilíneo y se dice que la luz está *polarizada en un punto* (13).

C) Birrefringencia

La birrefringencia o doble refracción es una propiedad de ciertos cuerpos de desdoblar un rayo de luz incidente en dos rayos linealmente polarizados de manera perpendicular entre sí y con distinto índice de refracción. El primero, de las dos direcciones, sigue las leyes normales de la refracción y se llama rayo ordinario; la otra tiene una velocidad y un índice de refracción variables y se llama rayo extraordinario (25).

La birrefringencia se presenta en cuerpos isotrópicos, éstos materiales al colocarse en un microscopio de polarización dan origen a las llamadas cruces de malta, que son patrones de interferencia de los haces de luz que provocó la birrefringencia.

IV MATERIAL Y MÉTODO

Se utilizaron semillas certificadas de garbanzo (*Cicer Arietinum L.*) cultivar Blanco origen Los Mochis Sinaloa México, cosecha 97/98. Las semillas de garbanzo estuvieron almacenadas a una temperatura entre 4-8 °C, para conservar la humedad de la semilla que se encuentra entre 8% y 10% y mantenerlas en estado fresco.

Imbibición

Lotes de 30 semillas, fueron imbibidas en agua destilada testigo (T) y el lote experimental (E) en Solución Salina de Rockland y Mesteler modificada por Esquivel y González (**Na Cl 2.5%, Na₃ PO₄ 12H₂O 1.00%, Na HCO₃ 0.75%, Na₂ CO₃ 0.25%**) a tiempos de 3h, 6h, 12h y 24h (18) .

Procesamiento de muestras para Microscopía

De cada uno de los lotes mencionados se tomaron al azar 8 semillas de cada uno y se procesaron para su estudio microscópico. Tanto de los testigos como los experimentales, se hicieron cortes en rodajas, las cuales fueron cortadas en forma triangular de tal manera que se tuviera una muestra desde la epidermis del cotiledón hacia el centro de éste (**Figura 7**).

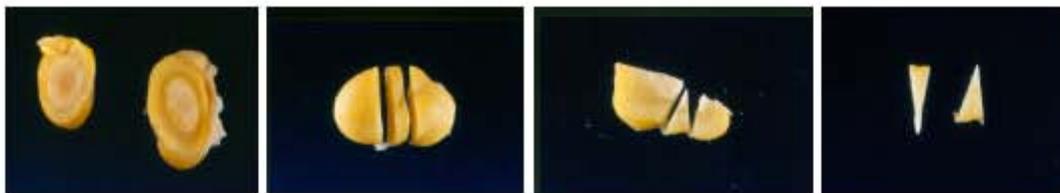


Figura 7. Cortes de los cotiledones del garbanzo (fotos de Fernando Garduño)

Fijación

Los cortes se sumergieron en Glutaraleido al 6% durante 24h a una temperatura entre 4°C y 5°C.

Enjuague

Después de la fijación se enjuagó con amortiguador de collidina (0.05 M pH 7.2 diluido en agua a una proporción 1:1 con sacarosa al 0.12 M), se hicieron en total 6 enjuagues de 5 minutos cada uno.

Deshidratación

La deshidratación de los trocitos se hizo en alcoholes graduales empezando en 30%, 50%, 70%, 85%, 96%, 20 minutos en cada uno y 3 cambios de alcohol absoluto, de 20 min, cada uno.

Preinclusión

Se preincluyeron las muestras en LRWhite diluido en alcohol absoluto utilizando las siguientes concentraciones 25%, 50%, 75% y 100% dejándolo durante 24hrs en cada concentración a una temperatura de 4°C y 5°C .

Inclusión

Se hizo en resina pura, dentro de cápsulas de gelatina transparentes, se sumergieron los cortes, etiquetando las cápsulas. Una vez tapadas herméticamente se mantuvieron a 60°C durante 24h en cámara de polimerización.

Corte

Se realizaron cortes de grosor 1µm, 1.25µm, 1.5µm y 2 µm, y se montaron en portaobjetos. Los cortes se adhirieron a los portaobjetos mediante calor en platina caliente, posteriormente algunos se tiñeron y otras laminillas se dejaron sin teñir para su posterior observación en el microscopio.

Microscopía

Los cortes fueron observados en un microscopio de campo claro a un aumento de 100x y 200x. También se observaron los mismos cortes con el microscopio de polarización y se obtuvieron las fotografías, excepto en casos en que la luz no era suficiente para poder tomarlas.

Fuerza de Punción

Las fuerzas de punción aplicadas a las semillas, se midieron con un aparato que fue diseñado para éste propósito.

Tomando en cuenta la Dureza de Rockwell que utiliza una punta para penetrar el material, se diseñó un aparato para medir la fuerza de punción, se hizo con una flecha hecha de latón unida a un resorte, la cual aplastaba las semillas mientras se empujaba del otro extremo. La fuerza total aplicada se midió con la compresión de un resorte, por la segunda ley de Newton que dice $F = kx$, se determinó k y midiendo la "x" en el momento en que la semilla ya no oponía resistencia, se obtuvo F (Fuerza de punción). El aparato diseñado se ve en la **figura 8** Se tomó una población de 80 semillas, cada una se colocó en la ventana del punzómetro y se aplastaba.



Figura 8. Punzómetro.

V RESULTADOS

Microscopía

Al colocar las muestras en un microscopio de campo claro se pudieron observar los cortes, obteniendo las siguientes micrografías (**figura 9 y 10**), todas las micrografías están a un aumento total de 400 x.

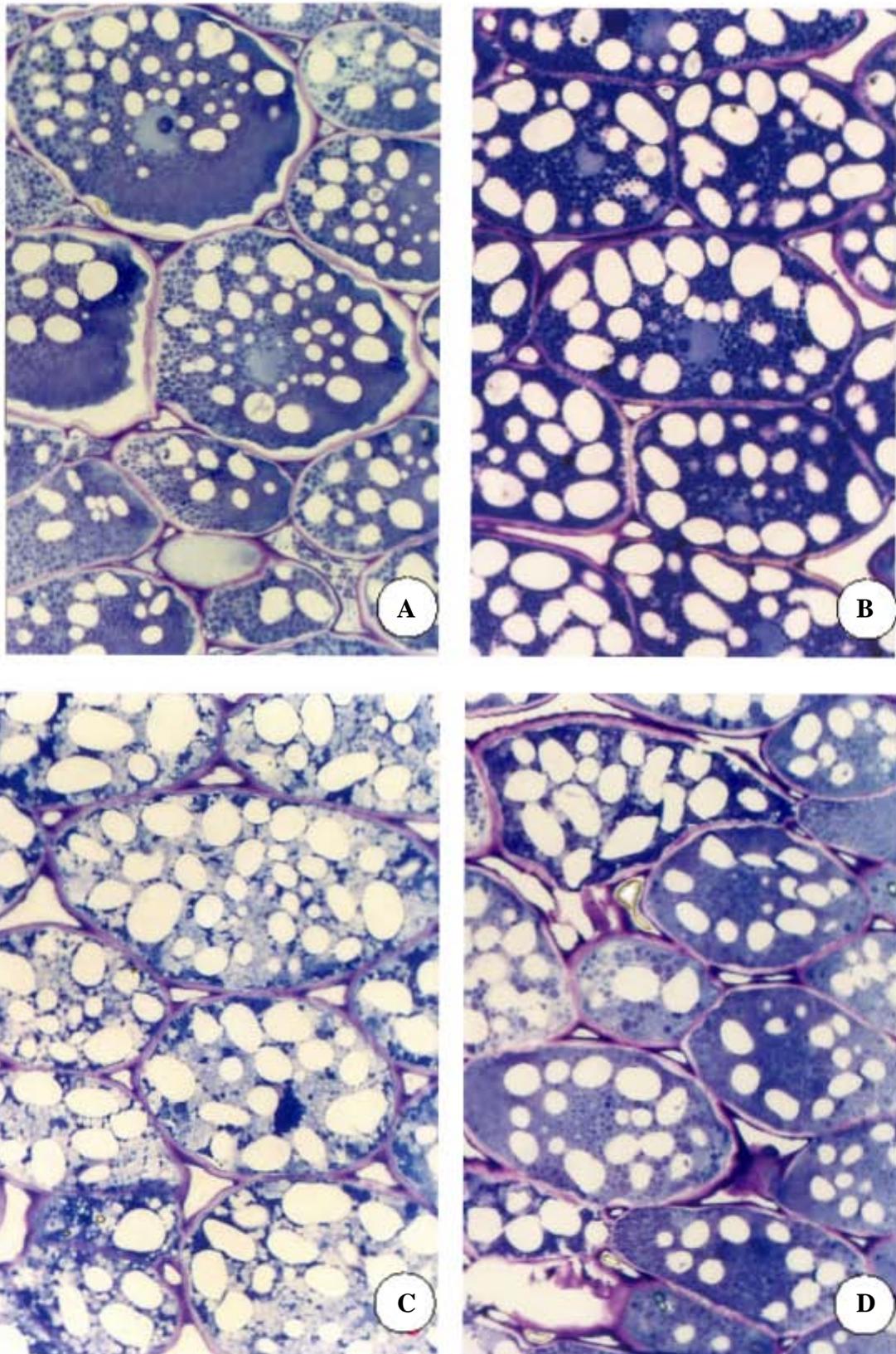


Figura 9: Células coltiledonarias de *Cicer Arietinum* L. cultivar Blanco Los Mochis, de muestras imbibidas en agua destilada: **A.** 3hrs; **B.** 6hrs; **C.** 12hrs; **D** 24hrs. Aumento 400 X

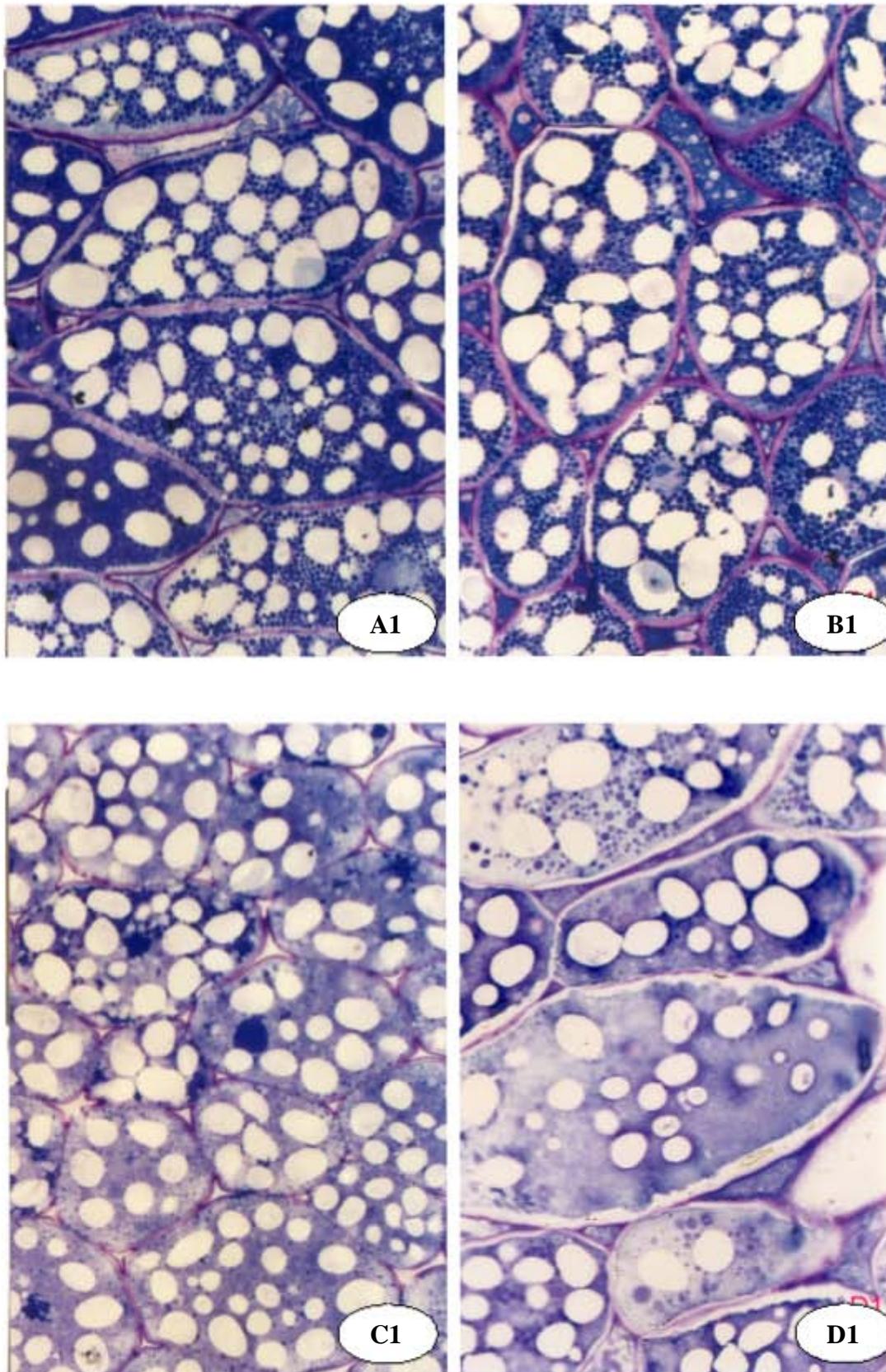


Figura 10: Células coltiledonarias de *Cicer Arietinum* L. cultivar Blanco Los Mochis, de muestras imbibidas en Solución Salina: **A1.** 3hrs; **B1.** 6hrs; **C1.** 12hrs; **D1** 24hrs. Aumento 400 X

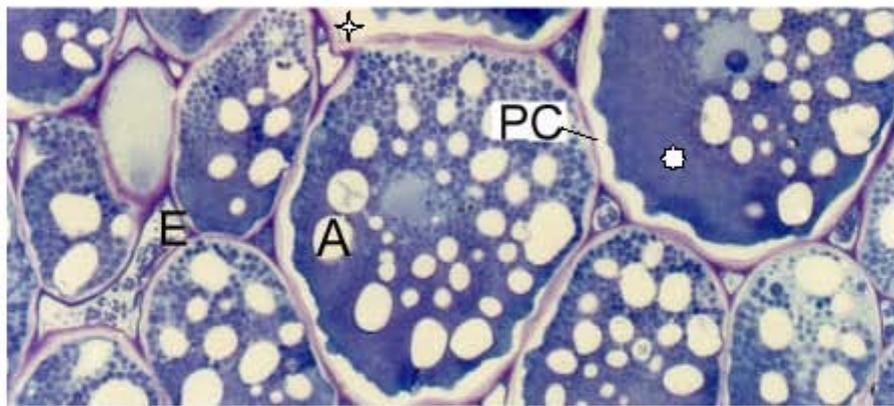


Figura 11. Esquinas (E), cuerpos almidonosos (A), pared celular (PC), ✦ es el espacio entre la pared celular y la membrana y ◻ es el retículo endoplásmico.

Lo que podemos observar en las muestras **T** que se presentan en la figura 9 de 3h de remojo, es que las paredes celulares (**figura 11**) son delgadas comparándolas con las de 6h y 24 h; pero semejantes a las de 12 h, además existe un espacio evidente entre la membrana y el retículo endoplásmico, lo que no se observa en los demás tiempos de imbibición. Fuera de la célula en las esquinas (espacio entre las células contiguas) se nota un contenido no muy aglomerado. Dentro de las células se ve que los cuerpos proteicos no están muy definidos. Y los cuerpos almidonosos se observan más pequeños que en los imbibidos durante más tiempo, probablemente esto se debió a que no habían absorbido suficiente agua.

En las muestras **T** de 6h de imbibición las paredes se ven un poco más gruesas que cuando se remoja en 3h. En éste caso no se presenta ningún tipo de contenido en las esquinas. Los cuerpos proteicos se notan mas definidos y los cuerpos almidonosos aumentaron de tamaño y su forma es de un óvalo bien definido.

Las muestras **T** de 12h de remojo, presentan de nuevo un espacio entre el retículo endoplásmico y la membrana. No aparece ningún contenido en las esquinas. Los cuerpos proteicos en éste caso se ven de mayor tamaño y se observa que empiezan a coalescer, es decir se fusionan. En cuanto a los cuerpos almidonosos se empieza a ver que algunos de ellos coalescen.

Las esquinas de las muestras **T** de 24h de remojo no presentan ningún tipo de contenido. Los cuerpos protéicos tienen forma circular y de mayor volumen que los observados después de 3,6 y 12 h de remojo debido probablemente a que están bien hidratados y en algunas células coalescen. Los cuerpos almidonosos se ven ahora deformados, sólo pocos coalescen.

Lo que se pudo observar en las muestras **E** que se muestran en la figura 10 con 3h de remojo es que las paredes se notan más gruesas que en el caso de las muestras **T** al mismo tiempo de imbibición, además de que en éstas muestras **E** no existe espacio entre la membrana citoplasmática y la pared celular. En todas las esquinas de las muestras **E** se presenta contenido. Los cuerpos protéicos se ven bien definidos. Los cuerpos almidonosos se ven grandes a comparación de las muestras **T** de 3h de remojo.

Las muestras **E** de 6h de imbibición presentan paredes celulares más gruesas que las muestras **E** de 3h. Tienen bastante contenido en las esquinas fuera de las células. Los cuerpos protéicos crecieron. Los cuerpos almidonosos están totalmente deformados y han coalescido varios de ellos.

Las paredes de las muestras **E** de 12h de imbibición se notan más delgadas que las demás muestras **E** a diferentes tiempos de imbibición. Aquí no se ve nada de contenido en las esquinas. Los cuerpos protéicos se ven muy grandes, probablemente por lo hidratados, pero sin coalescer. Los cuerpos almidonosos se ven un poco deformados, parece que algunos se restablecieron mientras que otros permanecen deformes.

En las muestras **E** de 24h de imbibición se presentan espacios entre la pared celular y la membrana. Se nota que en las esquinas hay contenido. Se notan pocos cuerpos protéicos, algunos se distinguen y otros no se observaron. Los cuerpos almidonosos ya no están deformados e incluso disminuyeron de tamaño.

Birrefringencia en Microscopía de Polarización

Al poner las muestras de los cortes de cotiledones en el microscopio de polarización, en algunas se observó la presencia de las cruces de malta como

resultado de la interferencia por los almidones, los resultados se muestran en la **tabla 1**

Tabla 1. Resultados que se obtuvieron con el microcopio de polarización

Tiempo (hrs)	Presencia de cruces T	Presencia de cruces E
3	Si	Si
6	Si	Si
12	Si	No
24	No	No

Las cruces que se vieron aunque no se pudo tomar foto se ve en la siguiente figura.



Figura 12 . Cruces de malta producidos por los cuerpos almidonosos.

Fuerza de Punción

Al medir la Fuerza de Punción de las semillas con el punzómetro se obtuvieron los siguientes resultados. **Tabla 2**

Tabla 2. Resultados obtenidos para las muestras testigo (**T**) y para las muestras experimentales (**E**)

Tiempo de imbibición(h)	Fuerza de punción T (N)	Fuerza de Punción E (N)
3	22.6 +/- 0.5	20.25 +/- 0.8
6	18.5 +/-0.8	20.67 +/- 0.5
12	17.6 +/- 0.5	18.67 +/-0.5
24	17.78 +/- 0.8	16.6 +/-0.7

Graficando éstos resultados se obtuvo **Curvas de Fuerza (figura 13)**, que se muestra a continuación. Donde la Serie 1 es la población testigo, y la Serie 2 es la población experimental.

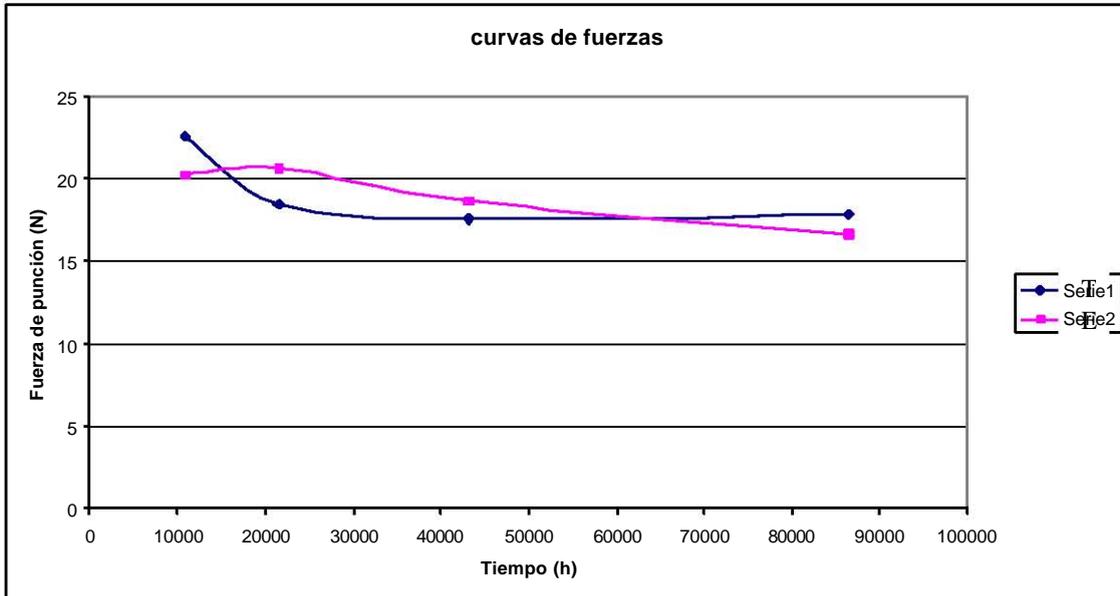
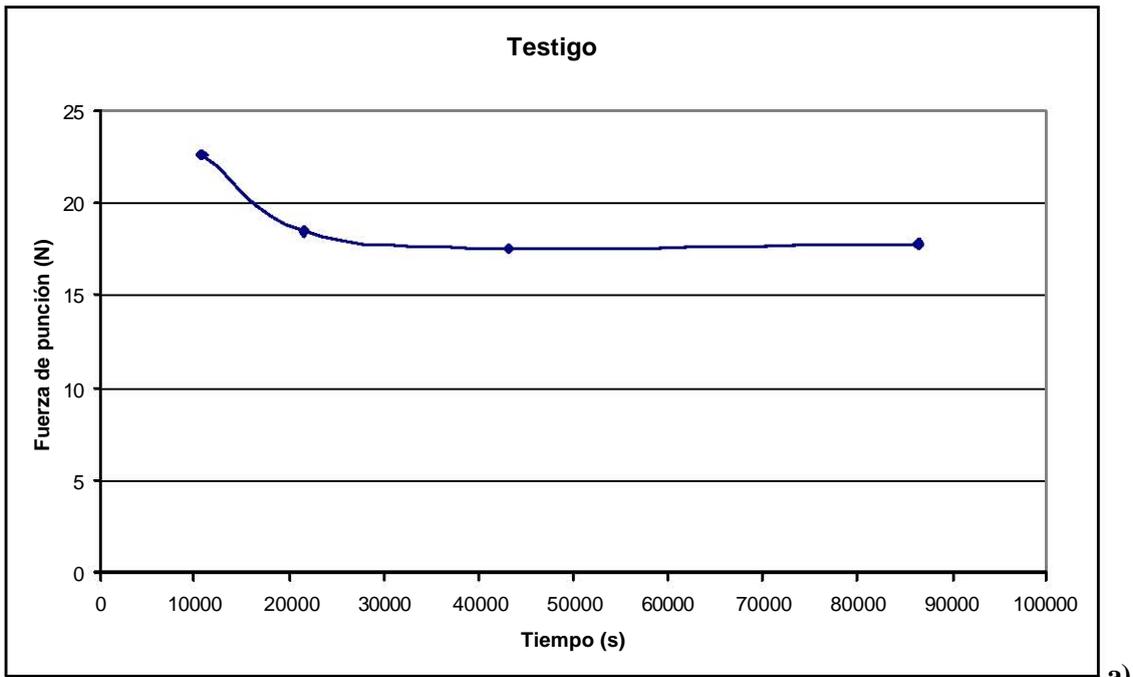


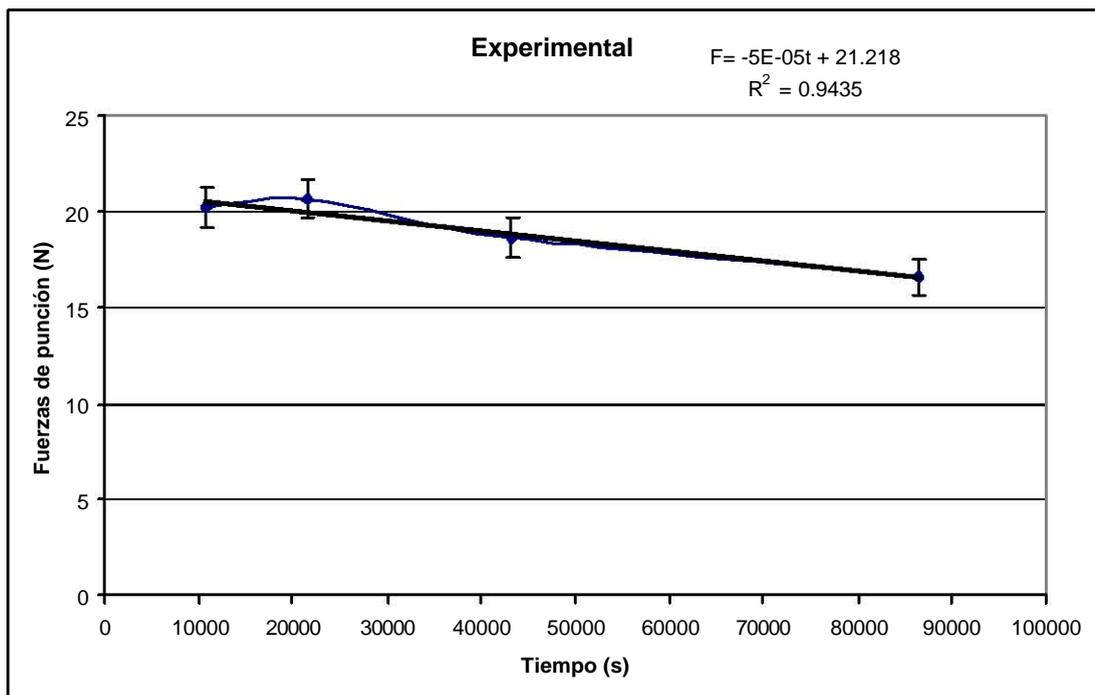
Figura 13. Fuerza de punción como función del tiempo de imbibición.

La gráfica de cada Fuerza de Punción con respecto al tiempo de imbibición, se muestra en la figura 14.

Una disminución en la fuerza de punción significa mayor reblandecimiento.



a)



b)

Figura 14. a) El reblandecimiento aumenta como función del tiempo de imbibición hasta las 6 h y después es constante. b) El reblandecimiento aumenta como función al tiempo de imbibición.

A las primeras 3h se puede observar que la población **T** se le aplica mayor fuerza que la población **E**; a las siguientes horas tanto para 6h como para 12h

la fuerza aplicada es mayor en la población **E** que en la población **T**, disminuyendo en 24h de imbibición, la población **T** se le aplica mayor fuerza que a la población **E**.

La fuerza aplicada a las primeras tres horas es menor para los garbanzos remojados en agua salina, que son los experimentales, que en agua destilada **T**. Además en las fuerzas aplicadas a las muestras testigo no hay cambio a partir de las 6h hasta las 24h.

El comportamiento tanto para la población testigo como para la experimental parece ajustarse a un comportamiento lineal (**Experimental**), mientras mayor tiempo se deje imbibiendo las semillas menor será la fuerza de punción aplicada.

VI DISCUSIÓN

Los cambios en la microestructura de todos los componentes de las células cotiledonáreas durante la imbibición, no han sido bien estudiados, por lo tanto no podemos compararlos con los obtenidos con otros autores. Con respecto a los cuerpos almidonosos en muestras **T** nuestros resultados mostraron que empieza haber deformación de los gránulos a las 6h y coalescen a las 12h, esto indica inicio de gelatinización, pero a los 24h se vuelven a observar íntegros y separados.; pudiéramos pensar que las células cotiledonareas vuelven a estabilizarse y por lo tanto muestran una microestructura de endurecimiento, lo que no se ve en la fuerza de punción, pero la semilla por estar viva puede reconstituir su microestructura, resultados que coinciden con Esquivel et al 1992 (15).

Las paredes celulares se observan separadas en las muestras de 12h y 24h lo que indica reblandecimiento, éste reblandecimiento aumenta como función del tiempo de imbibición, éste comportamiento se ha obtenido usando tratamientos térmicos (cocción). La deformación y coalescencia de los almidones se observó desde las primeras horas de imbibición y continúa hasta las 12hrs de imbibición, y en las de 24 ya no es muy notorio, esto indica que hubo gelatinización de los almidones (reblandecimiento), a pesar de que no hubo tratamiento térmico, estos resultados se parecen a los obtenidos con tratamiento térmico por Sedat 2001 (39), pero nuestros resultados no son producto del tratamiento térmico sino del remojo de solución salina.

En el caso de las muestras **T** (46) se obtuvo que no es necesario imbibir más de 6 h ya que a tiempos mayores de reblandecimiento no cambia; por otro lado en las micrografías se observa que los cuerpos protéicos coalescen, éstos resultados coincide con lo reportado por Hung y Deshpande (11) que observaron que cuando los cuerpos protéicos coalescen se asegura una imbibición del 100%.

Los resultados obtenidos con la microscopía de polarización nos indican que con agua destilada la birrefringencia desaparece hasta las 24hrs y en las

imbibidas con solución salina desaparecen desde las 12hrs. Estos resultados nos muestran que la solución salina activa más rápido la gelatinización lo que coincide con los de Rockland y Metzler (35), que mostraron la rápida cocción en dos soluciones diferentes una salina y la otra alotropizada, y con los de Esquivel C. (17).

Fuerza de Punción

La disminución de las Fuerzas de Punción en las muestras **E** indica reblandecimiento en las primeras 3 horas de la imbibición con solución salina este reblandecimiento ocurrido desde los inicios de la imbibición se ha reflejado en la disminución de los tiempos de cocción obtenidos por Rockland y Metzler 1967 (35), Garduño F., Esquivel C. (16) y lo mismo ocurre cuando se le da tratamiento térmico como lo mostraron en sus resultados Tapia 1985 (46) y Moscoso1984 (33).

CONCLUSIONES

- Los cambios en la microestructura pueden tomarse como un parámetro para indicar reblandecimiento. Consideramos que el adelgazamiento de las paredes celulares, los espacios que aparecen entre estas y el aumento de tamaño de los almidones son un indicativo.
- La ausencia de cruces de malta en el microscopio de polarización, debida a la gelatinización de los cuerpos almidonosos es un buen criterio para indicar si hay o no reblandecimiento.
- La medida de las fuerzas de punción demuestra el reblandecimiento y concluimos que el PUNZOMETRO (aparato diseñado para este propósito) resultó ser un buen aparato de medición de éstas fuerzas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bakshi, A. S. and Singh R.P. **KINETICS OF WATER DIFFUSION AND STARCH GELATINIZATION DURING RICE PARBOILING.** 1980 *Journal of food science.* 45, 1387-1392.
2. Birch, G.G. and Presley, R.J. **DEGREE OF GELATINIZATION OF COOKED RICE.** *Starch* 3, 98-100.
3. Bob B. Buchanan, Wilhelm Gruissem, Ruseell L. Jones. **BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY OF PLANTS.** *American Society of Plants Physiologists.* Rockville Maryland 2001.
4. Bourges Héctor R. **LAS LEGUMINOSAS EN LA ALIMENTACIÓN HUMANA.** *Cuadernos de Nutrición Febrero 1987. Volumen 10, No. 1, pág. 19-30*
5. Burr H.K., Kon S., y Morris H.J. **COOKING RATES OF DRY BEANS AS INFLUENCED BY MOISTURED CONTENT AND TEMPERATURE AND TIME OF STORAGE.** 1968. *Food Technol* 22: 336-338
6. Cabrera, Pineda, J., et al. **KINETICS OF WATER DIFFUSION AND STARCH GELATINIZATION DURING CORN NIXTAMALIZATION.** 1984 *Engineering and Food, engineering sciences in food industry.* vol 1.
7. Alfonso Clemente, Raúl Sánchez-Vioque, Javier Vioque, Juan Bautista and Francisco Millán. **EFFECT OF PROCESSING ON WATER ABSORTION AND SOFTENING KINETICS IN CHEAKPEA (*Cicer arietinum* L.) SEEDS.** *J Sci Food Agric, Society of Chemical Industry* .Gran Bretaña 1998: 30-36
8. Alfonso Clemente, Raúl Sánchez-Vioque, Javier Vioque, Juan Bautista and Francisco Millán. **SOFTENING KINETICS IN CHEAKPEA (*Cicer arietinum* L.) SEEDS.** *J Sci Food Agric, Society of Chemical Industry* .Gran Bretaña 1998: pag 12-20
9. Compañía Continental S.A. **SEMILLAS.** Editado por el centro regional de ayuda técnica (A.I.D.), México 1979. 1020p
10. J. Derek Bewley, Michale Black. **SEEDS Physiology of Development and Germination. Second Edition.** *Plenum Press.* Nueva York 1985.
11. S.S. Deshpande and M. Cheryan. **MICROESTRUCTURE AND WATER UPTAKE OF PHASEOLUS AND WINGED BEANS.** *Journal of Food Science* 1986. Volumen 51, No. 5 , pág 1218

12. Diaz de León .**RELACIÓN ENTRE EL GRADO DE METILACIÓN DE LA PECTINA Y EL TIEMPO DE COCCION DE ALGUNAS VARIETADES DEL FRIJOL** 1989. Tesis Profesional. Facultad de Ciencias U.N.A.M.

13. R.W. Dithburn. **ÓPTICA**, Revertè. España 1982. Págs. 469-474

14. Esau Catherine. **ANATOMIA VEGETAL**. Omega ediciones. Barcelona 1985.

15. Esquivel C., et al **CHEMICAL COMPOSITION AND ESTRUCTURE OF TWO MEXICAN BEANS (*Phaseolus vulgaris* L.) CULTIVARS IN RELATION TO COOKING TIME. FHYTON. 53 (2):143-153. 1992.**

16. Esquivel Huesca, Clara; González Avalos, Ma. Raquel; Márquez Guzmán, Judith. **CAMBIOS EN LA MICROESTRUCTURA DE LAS SEMILLAS DE CULTIVARES NEGROS DE *Phaseolus vulgaris* L. DURANTE EL REMOJO DE SOLUCION SALINA.** 7° Congreso Latinoamericano de Botánica y XIV Congreso Mexicano de Botánica. Unidad de Congresos del Centro Médico Nacional. Siglo XXI. Ciudad de México, 24 de octubre de 1998.

17. Clara Esquivel Huesca, Fernando Garduño Aguirre, Juan José Serrano Arellano y Judith Márquez Guzmán. **EL REMOJO USANDO DOS SOLUCIONES EN RELACION CON LOS TIEMPOS DE COCCION Y LOS CAMBIOS EN LA ESTRUCTURA DEL COTILEDON DEL CULTIVAR <<TUBUTAMA>> DE *Cicer arietinum* L.** Facultad de Ciencias, UNAM. VIII Congreso Latinoamericano de Botánica y II Congreso Colombiano de Botánica. 2002.

18. Esquivel Huesca, Clara; Garduño Aguirre, Fernando y Márquez-Guzmán, Judith. **CAMBIOS EN LA MICROESTRUCTURA DEL COTILEDON DEL CULTIVAR "TUBUTAMA" DE *Cicer arietinum* L. Y SU RELACIÓN CON LOS TIEMPOS DE COCCION; USANDO DOS SOLUCIONES Y DIRENTES TIEMPOS DE REMOJO.** XV Congreso Mexicano de Botánica. Los retos de la botánica mexicana en el Presente Siglo. 2001.

19. Esquivel, C., López, L., Márquez, J., Mateos, G. & Bernal-Lugo, I. **CHEMICAL COMPOSITION AND STRUCTURE OF TWO MEXICAN BEAN (*PHASEOLUS VULGARIS* L.) CULTIVARS N RELATION TO COOKING TIME. F YTON, 1992. 52(2):00-00, III. 1-11**

20. Garcia-Vela L.A. y Stanley D.W. **PROTEIN DENATURATION AND STARCH GELATINIZATION IN HARD TO COOK BEANS.** 1989. *J. Food Sci.* 54:1284-1286-1292

21. González Hablaos, Ma. Raquel; Márquez Guzmán, Judith y Esquivel Huesca, Clara. **“INFLUENCIA DE LA SOLUCION DE ROCKLAND Y METZLER MODIFICADA EN LA MICROESTRUCTURA DE TESTA Y COTILEDON DE FRIJOL NEGRO (*Phaseolus vulgaris* L.)”**. XXI Congreso Nacional de Histología. Facultad e Estudios Superiores, Zaragoza UNAM. México, Del 15 al 17 de Octubre de 1997.
22. González R., Márquez, J. y Esquivel, C. **INFLUENCIA DE LA SOLUCIÓN SALINA DE ROCKALAND Y MEZLER MODIFICADA EN LA MICROESTRUCFUTUREA Y TESTA DEL COTILEDON (*Phaseoolus vulgaris* L.)**. 1997 “XXI Congreso Nacional de Histología. Sociedad Nacional de Histología. Octubre .Programa y Resúmenes.
23. William G. Hopkings. *John Wiley and Sons* **.INTRODUCTION TO PLANT PHYSIOLOGY, Canadá 1995** Págs. 207, 233
24. Hosenev, R.C. **PRINCIPLES OF CEREAL SCIENCE AND TECHNOLOGY**. 1994. Gran Bretaña. págs. 130-137
25. Hecht- Zajac **ÓPTICA**. Addison Weley Iberoamericana. Estados Unidos 1986. Págs. 244
26. T.V. Hung, L.H. Liu, R.G. Black and M.A. Trehwella. **WATER ABSORTION IN CHEAKPEA (*Cicer arietinum* L.) AND FIELD PEA (*P. savitum*) CULTIVARS USING THE PELEG MODEL**. *Journal of food Science*. Gran Bretaña 1996. págs. 250- 300
27. Beata Klamczynska, Zuzanna Czuchajowska and Byung-Kee Baik. **COMPOSITION, SOAKING, COOKING PROPERTIES AND THERMAL CHARACTERISTICS OF STARCH OF CHICKPEAS, WRINKLEDPEAS AND SMOOTH PEAS**. *Journal of Food Science*. 1986
28. Lemus Tejeda Arturo, Esquivel Huesca Clara, González Avalos María Raquel y Márquez Guzmán Judith. **LA MICROESTRUCTURA DE LAS CÉLULAS COTILEDONARIAS DE *Phaseolus vulgaris* L. CULTIVAR “PERLA” EN RELACIÓN CON LA ABSORCIÓN A DIFERENTES TIEMPOS DE SOLUCIÓN SALINA MODIFICADA**. Exposición “Ecos de la Investigación Biológica”. Conjunto Amoxcalli, Facultad de Ciencias U N A M., Del 13 al 15 de noviembre de 2001
29. Lin, S.H. **WATER UPTAKE AND GELATINIZATION OF WHITE RICE**. 1993. *Lebensmittelwswissenschaft und Technologie*, 26, 276-278
30. Mateos C. Guadalupe, Esquivel H. Clara López C. Lourdes, Bernal L. Irma y Marquez G, Judith. **ESTUDIO ESTRUCTURAL COMPARATIVO DE DOS VARIEDADES DE *Phaseolus vulgaris* EN ESTADO SECO Y CON 50% DE IMBIBICION**. Seminario de Estudios Científicos Educativos en Histología. III REGIONAL D.F: y Area Metropolitana. Fac.de Medicina, U N A M, Departamento de Histología, Nov. de 1991.

31. Christopher K. Mathews, K.E. Van Holde. **BIOQUÍMICA** (segunda edición). *Mc Graw Hill interamericana*. España 1998.
32. Mattson, S. **The cookability of yellow peas** 1946. *Acta Agric. Scand.* 1:185
33. Wilfredo Moscoso, M.C. Bourne, and L.F. Hood. **RELATIONSHIPS BETWEEN THE HARD-TO-COOK PHENOMENON IN RED KIDNEY BEANS AND WATER ABSORPTION, PUNCTURE FORCE, PECTIN, PHYTIC ACID, AND MATERIALS.** *Journal of food Science*. Vol. 49 .1984
34. Erik Oberg, Franklin D Jones , et al. **MACHINERY'S HANDBOOK EDITION 24.** *Industrial press inc.* págs. 493-495. **New York 1992**
35. Rockland, L. B. E.A. Metzler **QUICK COOKING LIMA AND OTHER DRY BEANS.** 1967, *Food technology* . 21. 3(a) : 344-348.
36. Roberts E.H. **VIABILITY OF SEEDS .** 1972 Syracuse University Press
37. C.R.C. Sathé S.K., Desphande S.S. and Salunkha D.K. **DRY BEANS OF PHASEOLUS A REVIEW** PARTE 1. Technical composition proteins .*Rev. Food Sci. Nutr.* Vol20:1
38. Sears, Zemansky, Young, Freedman. **FÍSICA UNIVERSITARIA,** Addison Wesley Longman. **México 1999. Volumen 2 Págs. 1053-1054 y 1165-1169**
39. Sedat Sayar, Mahir Turhan **ANALYSIS OF CHEAKPEA SOAKING BY SIMULTANEOUS WATER TRANSFER AND WATER-STARCH REACTION.** 2000 *.Journal of food engineering.*
40. James F. Shackelford. **CIENCIA DE MATERIALES PARA INGENIEROS. Tercera edición.** *Prentice Hall.* Págs. 216-217. **México 1995**
41. Joseph E. Shigdey y Charles R Mishke. **STANDARD HANDBOOK OF MACHINE DESIGN.** *Mc Graw Hill.* Págs 7.22-7.26
42. Shomer I., Paster N., Linder P. and Vasilier R. **THE ROLE OF CELL WALL STRUCTURE IN THE HARD-TO-COOK PHENOMENON IN BEANS (Phaseolus vulgaris L.)** 1990 *Food Struct* . 9:139-149.
43. E .W .Simon. **SEED PHYSIOLOGY.** *Academic Press Australia* 1984 **.Volumen 2, Capítulo 3, Págs. 77-79**
44. Singh K.B. **CHICKPEA (Cicer arietinum L.)** 1997 Elsevier Science B.V..
45. William F. Smith. **FUNDAMENTOS DE LA CIENCIA E INGENIERÍA EN MATERIALES. Tercera edición.** *Mc Graw Hill.* Págs. 347. **España 1998**

46. TAPIA, B.H.; LOPEZ, S.J.; ESTRADA B. **EVALUACIÓN DE UN MÉTODO PARA REDUCIR EL TIEMPO DE COCCIÓN EN FRIJOL COMÚN XXXI REUNIÓN ANUAL DEL PCCMCA, SAN PEDRO SULA HONDURAS.** Del 16-19 Abril de 1985
47. Tovar, M. E.; C. Esquivel; I. Bernal y J. Márquez. **REVERSION DEL ENDURECIMIENTO EN *Phaseolus vulgaris* L.: ESTUDIO ESTRUCTURAL.** XII congreso Mexicano de Botánica. La Botánica Mexicana hacia el siglo XXI. Mérida Yucatán, Del 3 al 8 de octubre de 1993.
48. Turhan, M and Gunesakaran. **KINETICS OF IN SITU AND IN VITRO GELATINIZATION OF HARD AND SOFT WHEAT STARCHES DURING COOKING IN WATER.** *Journal Food Engineering*
49. www.usuarios.lycos.es/pefeco/ondas3/reflexrefracc.gif
50. www.personal.us.es/.../ilustrac/difraccion.jpg
51. www.yio.com.ar/fo/indiceref.html
52. www.apabcn.es/tecnica/renart/bases/pdfs/alcala/9306005.pdf
53. <http://es.wikipedia.org/wiki/Almid%C3%B3n>
54. <http://centros5.pntic.mec.es/ies.victoria.kent/Rincon-C/Curiosid/Rc-58.htm>
55. <http://www.microscopyu.com/tutorials/java/polarized/crystal/index.html>
56. <http://www.biologie.uni-hamburg.de/b-online/e03/03c.htm>
57. <http://www.olympusmicro.com/primer/techniques/polarized/polarizedhome.html>
58. www.olympusmicro.com/primer/techniques/polarized/polarizedhome.html