

00322



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

63



CAMBIOS EN LA MICROESTRUCTURA DEL COTILEDÓN  
DEL CULTIVAR "TUBUTAMA" DE *Cicer arietinum* L.  
Y SU RELACIÓN CON LOS TIEMPOS DE COCCIÓN;  
USANDO DOS SOLUCIONES Y DIFERENTES TIEMPOS DE REMOJO.

**TESIS**

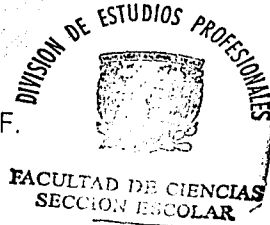
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
**BIÓLOGO**  
PRESENTA:

**FERNANDO GARDUÑO AGUIRRE**

DIRECTORA DE TESIS:  
DRA. CLARA ESQUIVEL HUESCA



MÉXICO, D.F.



2003

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

h



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.

**PAGINACION**

**DISCONTINUA**



INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

**DRA. MARÍA DE LOURDES ESTEVA PERALTA**  
**Jefa de la División de Estudios Profesionales de la**  
**Facultad de Ciencias**  
**Presente**

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo escrito: "Cambios en la microestructura del cotiledón del cultivar "Tubutama" de Cicer arietinum L. y su relación con los tiempos de cocción; usando dos soluciones y diferentes tiempos de remojo."

realizado por Fernando Garduño Aguirre

con número de cuenta 7512952-9, quien cubrió los créditos de la carrera de:  
BIOLOGO

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

A t e n t a m e n t e

Director de Tesis  
Propietario

Dra. Clara Esquivel Huesca

Propietario

Dra. Helia Reyna Osuna Fernández

Propietario

Fis. Silvia Vázquez Islas

Suplente

M. en C. María de Lourdes López Curto

Suplente

Biol. María Raquel González Avalos

Consejo Departamental de BIOLOGIA

M. en C. Juan Manuel Rodríguez Chávez

UNIDAD DE ENSEÑANZA DE BIOLOGIA



UNIDAD DE ENSEÑANZA DE BIOLOGIA

8

**LA CAUSA DE TODO**

Tu eras la causa de todo.  
De la comprensión de la caída libre,  
la telemetría, la solubilidad  
y la ignición;  
el porqué del regreso  
a las ecuaciones,  
al bentos, los ángulos  
y la desviación estandar;  
la razón de entender  
los poliquetos,  
la luz, la difusión  
y el teloma;  
el objetivo de saber  
la suma de matrices,  
la melanina, los oviductos  
y la serotonina;  
las ganas de evitar  
las neurosis obsesivas,  
los vicios, las desdichas  
y la gente ignorante;  
la idea de aplicar  
la función sináptica,  
las esporas, los basidios  
y la electroforésis;  
el afán de conocer  
las tempestades,  
la erosión, los estomas  
y el flujo laminar;  
el saber manejar  
las técnicas de adsorción,  
las pedagógicas, las automovilísticas  
y las de redacción;  
el deseo de indagar  
las supernovas;  
la ósmosis, la filogénia  
y el viento solar;

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

**F. Garduño A.**

# A MIS HIJOS

*Marta Astor y Fernanda Stanházn*

**Es fantástico imaginar  
como  
desde el albor del universo  
todo  
proviene del interior  
de una estrella.  
Desde el oxígeno y nitrógeno  
que respiro  
hasta el calcio y fósforo  
de mis huesos  
todos los elementos  
del ser orgánico  
fueron alguna vez  
de la masa cósmica.**

**Así,  
soy un componente  
orgánico  
de la evolución universal  
y puedo  
afirmar sin exageración o egolatría  
que soy  
Descendiente de las estrellas.**

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

F. Garduño A.

## AGRADECIMIENTOS

- ✓ A la Dra. Clara Esquivel Musaca, por su atinada dirección, su apoyo, su paciencia y sus sabios consejos.
- ✓ A la Dra. Nelia Reyna Saena Fernández, por sus comentarios metodológicos y su acertada guía en la interpretación estadística de datos.
- ✓ A la Fla. Silvia Vázquez Ielas, por su aportación académica referente a las Celdas Alotrópicas.
- ✓ A la M. en C. María de Lourdes López Curto, por su minuciosa revisión metodológica y sus observaciones histoquímicas.
- ✓ A la Biol. Raquel González Avalos, por sus comentarios con relación a la microestructura celular.
- ✓ A la Dra. Judith Márquez Guzmán, por las facilidades prestadas para el desarrollo del experimento, en el laboratorio a su digno cargo y ser uno de los tres motivos para incursionar en la docencia.
- ✓ A la Lic. Mariela Ramírez Moo, por las facilidades brindadas para la redacción final del manuscrito.
- ✓ Al Dr. Guillermo Laguna Hernández, por su asesoría académica en general.
- ✓ A la M. en C. Ana Isabel Dieler Antolin, por su brillante y profesional manejo fotográfico de las imágenes.
- ✓ A la Mat. PHar Alonso Reyes, por su ayuda en la elaboración del tratamiento estadístico de los datos.
- ✓ A todos los miembros del Laboratorio de Desarrollo en Plantas, por la retroalimentación durante la gestación y el desarrollo de éste trabajo.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

*“... un informe escrito  
es tan solo una hebra  
hilada artificialmente  
en forma de cadena  
ya que,  
en la trama de pensamiento  
de la que se deriva,  
los elementos  
están interconectados  
de acuerdo a un modo  
más complejo...”*

*(Arber, 1953)*

*“Gracias a la vida  
que me ha dado tanto...”*

*(V. Parra)*



## ÍNDICE

	pagina
I RESÚMEN	1
II INTRODUCCIÓN	2
III ANTECEDENTES	4
III.1 BOTÁNICA	4
1.1 TAXONOMÍA	4
1.1.a GENERALIDADES	6
1.2 ORIGEN	8
1.3 ECOLOGÍA	10
1.4 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DE LA SEMILLA	11
1.5 LA MICROESTRUCTURA	12
III.2 IMPORTANCIA ECONÓMICA	13
2.1 PRODUCCIÓN MUNDIAL	13
2.2 PRODUCCIÓN NACIONAL	14
III.3 USOS	16
3.1 ALIMENTICIOS	16
3.2 VARIOS	17
III.4 PROCESAMIENTO PARA LA COCCIÓN	19
4.1 EL REMOJO	19
4.2 TECNOLOGÍA DE COCCIÓN	20
III.5 TRATAMIENTOS EXPERIMENTALES	22
5.1 SOLUCIÓN SALINA	22
5.2 AGUA ALOTROPIZADA	23
IV OBJETIVOS	26
IV.1 GENERAL	
IV.2 PARTICULARES	
V MÉTODO	27
V.1 CURVA DE IMBIBICIÓN	27
V.2 PRUEBA DE IMBIBICIÓN "in situ"	27
V.3 TIEMPO DE REMOJO (t R)	28
V.4 TIEMPO MEDIO DE COCCIÓN (t 50)	29

V.5 PROCESAMIENTO DE MATERIAL PARA MICROSCOPIA ÓPTICA	30
V.6 PROCESO DE INCLUSIÓN PARA ULTRAMICROTOMIA	32
V.7 PRUEBAS HISTOQUÍMICAS	32
V.8 MICROGRAFÍAS	33
V.9 ESTADÍSTICA	33
VI RESULTADOS-DISCUSSION	34
VI.1 EL PROCESO DE IMBIBICIÓN	34
VI.2 INTERPRETACIÓN DE LOS PROCESOS t 50 Y tR	33
VI.3 EFECTO DE AD, AA Y SS EN LAS CELULAS COTILEDONARIAS	37
VI.4 MICROGRAFÍAS	41.a
VI.5 ANÁLISIS DE PRUEBAS HISTOQUÍMICAS	42
VI.6 ANÁLISIS DE LA PRUEBA DE IMBIBICIÓN "IN SITU"	45
VI.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	46
VI.8 ANÁLISIS ECONÓMICO COMPARATIVO	47
VII DISCUSIÓN	52
VIII CONCLUSIONES	55
IX BIBLIOGRAFÍA	57
IX ANEXOS	65
A) DIAGRAMA DE FLUJO GENERAL	66
B) CELDAS ALOTRÓPICAS	67
C) PRODUCCIÓN MUNDIAL DE GARBANZO	69
D) PROPUESTA PARA ESTUDIOS FUTUROS	70

## I RESUMEN

El garbanzo (*Cicer arietinum* L.) es un cultivo de las regiones tropicales, subtropicales y templadas. Los países con mayor producción son: India, Turquía, Pakistán y México. Representa una fuente proteica en países subdesarrollados y se consume en diversas formas. La cocción es un proceso necesario para su consumo y dada la crisis energética, es importante proponer alternativas para reducir los tiempos de cocción. El objetivo de este estudio fue determinar los tiempos de cocción relacionándolos con los cambios presentados en la estructura de los cotiledones, al someterlos a dos tipos de remojo, en agua alotropizada y en solución salina, a diferentes tiempos para su reblandecimiento. Se procesaron los cotiledones para su estudio en microscopía óptica y se hicieron pruebas histoquímicas para identificar gránulos de almidón, cuerpos proteicos, paredes celulares y taninos. Se realizó curva de imbibición en agua destilada y prueba de imbibición "*in situ*" con solución de tetraóxido de Osmio al 2%. Se determinaron tiempos medios de cocción ( $t_{50}$ ) en agua destilada, agua alotropizada y solución salina. La curva de imbibición mostró que el 100% se alcanzó desde las doce horas. La imbibición "*in situ*", desde la periferia hacia el interior del cotiledón no fue uniforme. Las curvas de los  $t_{50}$  en testigo y agua alotropizada, fueron similares hasta las 12 horas, pero; después disminuyen en alotropizada. En solución salina los  $t_{50}$  fueron los más rápidos. Se observaron cambios estructurales con relación a los tiempos de hidratación y con respecto a las soluciones comparadas; tales cambios se observaron en el tamaño y forma de los cuerpos proteicos, los almidones y la pared celular, según el tipo y tiempo de remojo. Se concluye que los dos tipos de remojo, son reblandecedores, con un mayor efecto en el segundo; reflejándose en la disminución de los  $t_{50}$  y en los cambios estructurales observados.

## II INTRODUCCIÓN

El garbanzo (*Cicer arietinum* L.) y otras leguminosas resultan ser una fuente económica de nutrientes. Está distribuido en las regiones tropicales, subtropicales y templadas; casi siempre coincidente con la geografía de los países en vías de desarrollo. De las semillas comestibles es la cuarta leguminosa en importancia del mundo y la primera en la región mediterránea. En México la producción comercial data de más de 50 años, siendo un producto que se destina en mayor medida al mercado internacional. (Rodríguez, 1998). Los países con mayor producción son: India, Turquía, Pakistán y México (ASERCA, 2002).

Las semillas de *C. arietinum* L. tienen 38-59% de carbohidratos, 25.3-28.9% de proteínas, 4.8-5.5% de lípidos y 3% de fibra, además de minerales y vitaminas del grupo-B (Muehlbauer and Tullu, 1997); resultando así, una fuente adecuada de nutrientes para regiones donde la proteína animal resulta onerosa. Se consumen recién cosechadas, tostadas, fritas, asadas, como harina y hervidas. El último caso requiere remojo y cocción.

La mayor parte de las semillas de leguminosas se comercializan secas, por lo que, los consumidores las remojan y después las cuecen; lo cual implica un gasto de tiempo y energía considerable.

La sabiduría popular ha mostrado que, al menos para el frijol, el tiempo de Remojo (tR) varía de 8 a 12 horas. El caso del garbanzo es parecido, aún cuando se puede conseguir a la venta ya hidratado y existen reportes de un adecuado cocimiento con un remojo de 4 horas (FAO, 1979), su tiempo de cocción es prolongado, por lo que es necesario plantear alternativas para reducir los tiempos; tanto de hidratación, como de cocción. Lo anterior influiría

favorablemente en la economía doméstica e industrial lo que repercutiría en el ahorro de energía y por tanto en reducción de costos.

Ahora bien, de acuerdo al conocimiento empírico (Miramón De Jesús, E. 1990. Comunicación personal) y según la literatura consultada (Rockland, 1974), la mayor parte de los autores coinciden en que el remojo provoca un reblandecimiento en las semillas, lo cual se refleja en un menor tiempo de cocción.

Se han utilizado para el remojo: agua fría o caliente, soluciones salinas para reblandecer y también se cita que la alotropía puede reducir estos tiempos, recomendando el uso de agua alotropizada para el remojo de las semillas antes de la cocción, esto último, sin estar respaldado por algún estudio científico, solamente se menciona en la propaganda comercial de las celdas alotrópicas. Así, el establecer los cambios microestructurales que ocurren conforme transcurre el tiempo de remojo en diferentes soluciones, es una herramienta útil para determinar las mejores condiciones que reduzcan los tiempos de cocción.

### **III ANTECEDENTES**

#### **III.1 BOTÁNICA**

##### **III.1.1 TAXONOMÍA.**

*Cicer* comprende una tribu monogenérica Cicereae. El género incluye 9 especies anuales y 34 perennes (Van der Maesen, 1987) (Muehlbauer and Singh, 1987), de éstas solo una (*C. arietinum*) es cultivada con fines comerciales, las demás son silvestres. Con base en el número cromosómico ( $2n=16$ ) y la similitud morfológica se considera que *C. reticulatum* es la especie progenitora de *C. arietinum*, la cual está relacionada también con *C. pinnatifidum*, *C. echinospermum* y *C. bijugam*; (Van der Maesen, 1975). La capacidad de cruzamiento y la fertilidad de los híbridos en cruzas interespecíficas se han usado como referencia para clasificar las especies anuales en cuatro grupos. El primer grupo incluye el garbanzo cultivado (*C. arietinum*, especie de la que trata este trabajo) y también *C. reticulatum* la cual es silvestre. (Ladizinsky; *et al*, 1988). El criterio anterior es apoyado por los estudios de Tayyar y Waines (1995) respecto a la variación de isozima en las relaciones genéticas entre las especies del género *Cicer*, asimismo, usando el análisis de Nei referente a la distancia genética, Singh (1997) establece los cuatro grupos genéticos: el primero incluye a *C. reticulatum*, *C. arietinum* y *C. echinospermum*; el segundo contiene a *C. bijugum*, *C. pinnatifidum*, y *C. judaicum*. *Cicer*

*yamashitae*, *C. chorassanicum*, *C. anatolicum* y *C. soongaricum* forman el tercer grupo; mientras que *C. cuneatum* es el único integrante del cuarto grupo.

### III.1.1.a GENERALIDADES

El nombre científico es *Cicer arietinum* Linneo. En la literatura se comenta que el nombre del genero *Cicer* "... tiene origen latino y significa "verruca"; es probable que derive de la palabra indogermánica "kickere", utilizada por tribus antiguas que habitaban en el norte de Grecia". (De Miguel, 1991)

De hecho, muchos de los nombres para denominar al garbanzo en otras lenguas, provienen de la palabra



Figura 1. Semillas de garbanzo tipo "kabuli".

Cicer: por ejemplo "pois chiche" en Francia; "kicherbse" o "kicher" en Alemania.

Las características físicas de la semilla incluyen: 0.9525 cm (3/8 de pulgada) de diámetro; apariencia arrugada con una punta hacia el extremo del micrópilo; coloración blanquecina, rojiza o negruzca; textura de la testa recargada y parecida a la cabeza de un carnero (de ahí el nombre *arietinum*); etimológicamente proviene del latín *arieti-nus* = como cabeza de carnero o bien del griego "krios", que significa carnero y garbanzo, aludiendo a la forma de la semilla (Fig. 1).

Considerando regiones mundiales, *C. arietinum* L. es conocido como "bengal gram"(India); "chickpea" (En los países sajones); "garbanzo"(América Latina); "hommes", "hamaz"(Mundo Árabe); "nohud", "lablabi"(Turquía) y "shimbra"(Etiopía) (Muehlbauer and Tullu,97). Otros nombres más regionalizados son: boot, chana, chola, chhole, garbanzo bean,

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



pois chiche (Duke, 81),(Janoria *et al*,84), "calahuantzaj" (Totonaco) en Puebla, Mex. y "paari-comitin" (Seri) en Sonora, Mex. (SARH-INIA,82).

### III.1.2 ORIGEN.

En Muehlbauer and Tullu (1997), se comenta que hay varias suposiciones en torno al origen de la especie. Van der Maesen (1972), la consideraba originaria del sur del Cáucaso y el norte de Persia, lo cual difiere un tanto de la propuesta de Ladizinsky (1975), quien propone como centro de origen el sureste de Turquía; sin embargo, Van der Maesen (1987) reconoce a la región sureste de Turquía (adyacente a Siria) como el posible centro de origen del garbanzo, fundamentado en la presencia de algunas especies anuales, estrechamente relacionadas (*C. reticulatum* y *C. echinospermum*). La especie silvestre - *C. reticulatum*- además de ser morfológicamente muy parecida, es interfértil con *C. arietinum*, por lo cual es considerada como la especie progenitora del garbanzo cultivado.

El registro más antiguo, como *Cicer sp.* en general, data del año 5450 A. C. y procede de la localidad turca de Hacilar. También se ha encontrado como ofrenda mortuoria, una vasija con garbanzo del 1400 A. C. en Dehir-el Medine (Egipto), aunque cabe recordar que la escasa presencia de leguminosas en las tumbas egipcias se debe a que los egipcios las consideraban "sustancias impuras". Asimismo, se han encontrado grandes cantidades en capas que datan del principio de la edad de bronce (3200 A. C.) o quizás, incluso de épocas anteriores (6250 A. C.) en Jericó. Mientras que en la India, su primera aparición data del año 2000 A. C., siendo una planta cultivada desde tiempos remotos (Rodríguez Mireles, 1998). Así, entre los hallazgos de una excavación arqueológica se detectaron semillas de garbanzo en el estrato Neolítico de la región de Hungría, realizándose dibujos de ellas como el que se muestra en la figura 2.

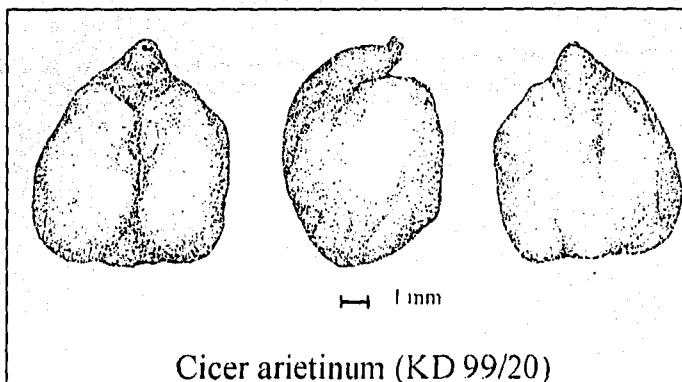


Figura 2. Dibujos de semillas encontradas en el estrato Neolítico de la región de Hungría.  
([www.geocites.com/elenamarinova/bg/cicer3.jpg](http://www.geocites.com/elenamarinova/bg/cicer3.jpg) )

Apoyándose en la evidencia botánica y arqueológica se sabe que el garbanzo fue domesticado en la región de Medio Oriente y cultivado extensamente en la India, el área mediterránea, en Oriente Medio y Etiopía desde la antigüedad. Desde que se introdujo en América (durante el segundo viaje de Colón), es actualmente un cultivo importante en México, Argentina, Chile, Perú y Estados Unidos; así como en Australia y algunos países europeos. Es importante destacar la presencia de muchas especies silvestres en Turquía, Irán, Afganistán y Asia Central (Duke, 1981).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

### III.1.3 ECOLOGIA.

La polinización cruzada es mínima (Niknejad y Khosh-Khui, 1972). Singh (1987) y Smithson *et al* (1985), consideran que se presenta en un rango de 0 a 1%.

En, Van der Maesen (1972) se menciona que el cultivo de garbanzo se ha trasladado de su ambiente óptimo, al pie de las colinas con gran intensidad luminosa, días largos, temperaturas moderadamente altas y suelos bien drenados; a las planicies de la India. Generalmente es considerado como un cultivo de clima frío de temporal o como un cultivo de clima seco en regiones semi-áridas. Se ha establecido que las condiciones óptimas de temperatura son de (18 a 20)° C en el día y de (21 a 29)° C por la noche, con una precipitación media anual de (600 a 1,000) mm<sup>3</sup> (Duke, 1981; Muehlbauer *et al*, 1982 y 1988).

"De manera generalizada crecen sobre suelos negros o rojos, con pH de 5.5 a 8.6. Las heladas, el granizo y las lluvias excesivas deterioran el cultivo. Aunque es sensible al frío, algunos cultivares ( en fases tempranas del desarrollo) pueden tolerar temperaturas de -9.5° C e incluso permanecer bajo la nieve. Son deseables las fluctuaciones diarias de temperatura y noches frías con rocío. La humedad relativa - de 21% a 41%- es óptima para la germinación..." (Duke, 1981).

### III.1.4 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DE LA SEMILLA

La composición química de la semilla está generalmente reportada con base en los cotiledones al ser estos la parte más representativa: "96% de las proteínas, 94% de los lípidos, 88% de los carbohidratos, 81% de las cenizas, 94% del fósforo y 70% del hierro del total de la semilla completa; por lo tanto, son la mayor fuente de nutrientes. Sin embargo, el embrión es rico en proteínas, lípidos y minerales; en tanto que la testa es abundante en fibra cruda y Calcio (48% y 72% del total respectivamente)"( Chavan and Salunke, 1986).

Considerándola completa y tomando como base 100 g de semilla, puede presentar de (12.4 a 30.6) g de proteína, con un promedio de 21.5 g; de (52.4 a 70.9)g de carbohidratos, con un promedio de 61.7 g; de (3.1 a 6.9)g de lípidos, con un promedio de (5.0 g; de 2.5 a 4.6)g de ceniza, con un promedio de 3.6 g y de (1.2 a 13.5)g de fibra cruda, con un promedio de 8.0 g.(Esh *et al*, 1959) En cuanto a vitaminas y minerales, presenta (de 0 a 225) mg de beta caroteno; (0.21-1.1) mg de tiamina; (0.12-0.33) mg de riboflavina; (1.3-2.9) mg de niacina; (140-440) mg de calcio; (190-382) mg de fósforo y (5.0-23.9) mg de hierro. (Duke, 1981; Huisman and Van der Poel, 1994)

Dado que es una semilla con alto contenido proteico vale la pena comentar que, de los aminoácidos esenciales, presenta los siguientes en una proporción de g/16g N: 7.2 g de lisina, 1.4 g de metionina, 8.8 g de arginina, 4.0 g de glicina, 2.3 g de alanina, 11.7 g de ácido aspártico, 16.0 g de ácido glutámico, 0.0 g de hidroxiprolina, 4.3 g de prolina y 5.2 g de serina. (OP CIT)

### III.1.5 LA MICROESTRUCTURA

Los componentes microestructurales de la semilla del garbanzo presentan la disposición característica de las leguminosas, es decir, del exterior al interior se observa lo siguiente:

- a) La cubierta seminal o testa está conformada por células en empalizada, con mayor o menor cantidad de taninos según el tipo de cultivar, (Sefa-Dedeh and Stanley, 1979<sub>2</sub>);
- b) La parte correspondiente al cotiledón ocupa la mayor parte de la semilla y se presenta como tejido parenquimatoso con abundante material de reserva consistente en gránulos de almidón de forma elipsoide y/o esférico. (Otto *et al*, 1997; Sefa-Dedeh and Stanley, 1979<sub>3</sub>) los cuales ocupan la mayor parte de las células cotiledonarias;
- c) No en la misma cantidad, pero si ocupando una parte representativa del citoplasma están los cuerpos proteicos de forma esférica y embebidos en una matriz proteica, característica de las leguminosas (*OP CIT*; Stanley and Aguilera, 1985).

### III.2 IMPORTANCIA ECONÓMICA

En general, Asia contribuye aproximadamente con el 90% de la producción mundial y la India aporta alrededor del 75% de dicha producción, aproximadamente 5,383,335 Ton (FAO, 2001). Sin aportar los volúmenes anteriores, otros productores importantes son Turquía, Pakistán, México y Etiopía.

De manera común el cultivo del garbanzo produce entre 400 y 600 kg/ha en promedio pero, en condiciones óptimas, puede alcanzar los 2,000 kg/ha. Sin embargo, en condiciones experimentales se han llegado a obtener hasta 5,200 kg/ha (Malhotra *et al*, 1987).

En general se reconocen dos grandes tipos de garbanzos, el "desi" (de tonos oscuros, semilla pequeña, angulosa y fibrosa) y el tipo "kabuli" (de color claro, semilla grande, con forma más definida de cabeza de carnero y bajo contenido en fibra); de los cuales se han derivado muchos cultivares, dependiendo la biogeografía regional y sus correspondientes necesidades.

En la India y Pakistán, los principales productores, aproximadamente el 56% de la producción se consume localmente.

#### III.2.1 PRODUCCIÓN MUNDIAL

En función de la aportación por región mundial, Asia produce de 5 a 6 x 10<sup>6</sup> Toneladas Métricas (MT), con un rendimiento de (570 a 766) kg/ha.

Figura 2. Campos de cultivo de la Universidad de Oregon.



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Aquí, el líder es la India con una producción de  $(4 \text{ a } 5) \times 10^6$  MT y un rendimiento de (500 a 900) kg/ha; también son representativos Turquía y Pakistán. Por su parte, África produce de  $(250 \text{ a } 364) \times 10^3$  MT, con rendimientos promedio de (600 a 660) kg/ha. Etiopía es el principal productor. Norte y Centroamérica producen  $(180\text{-}260) \times 10^3$  MT, con rendimiento promedio de 1,600 kg/ha, con México como principal productor; mientras que Europa produce  $(50\text{-}118) \times 10^3$  MT y rendimientos de 750 kg/ha (FAO, 76 y 94).

Con relación a los porcentajes globales de producción, la India representa el 73%, Turquía 12%, Pakistán 7%, Irán 5% y México 3% (ASERCA, 1997). En este rubro, México ascendió al cuarto lugar en la producción del año 2001 (ASERCA, 2002). Ver Anexo C.

De los poco más de 10 millones de hectáreas dedicadas a la siembra del garbanzo en el mundo, aproximadamente 7 millones se cultivan en la India, seguido de Pakistán y Turquía. En Latinoamérica la mayoría del cultivo se produce en México. En Europa los principales productores son España, Italia y Portugal.

### III.2.2 PRODUCCIÓN NACIONAL

En México, el cultivo de leguminosas es ancestral, tal es el caso del frijol. Se considera que la introducción del cultivo de *Cicer arietinum* en América data del segundo viaje de Cristóbal Colón, después del cual se realizaron los primeros cultivos en las Antillas, obteniéndose resultados poco favorables. Mas tarde es traído a México, donde el potencial ecológico de la semilla encuentra un eco enorme.

Los cultivos que se producen en México también provienen de los tipos "desi" y "kabuli", predominando el primero con relación al segundo; ya que, el garbanzo café y pequeño llamado forrajero se destina casi en su totalidad a la alimentación del ganado;



mientras que el garbanzo grande y blanco para consumo humano, se destina en su mayor parte a la exportación. La calidad del grano "kabuli"—de tipo "extra"- producido en México es tal, que está ubicado como el mejor del mundo; tanto por su calidad, como por la variedad de cultivos que se ofrecen hasta en 18 países.

"En el país se localizan dos zonas productoras, la zona Noroeste que comprende los estados de Sinaloa, Sonora y Baja California Sur, donde se cultiva el 95% del garbanzo blanco para exportación y; la zona del Bajío que agrupa a los estados de Querétaro, Guanajuato, Michoacán y Jalisco en la que, el 95% de la producción es de tipo forrajero" (Rodríguez, 1998).

En cuanto al volumen, la zona Noroeste representó el 69.74% de la producción total, en tanto que la zona del Bajío contribuyó con el 28.23%. En general, a pesar de observarse fluctuaciones en la década pasada, las producciones están por arriba de 100 000 ton, con rendimientos entre (1.32 y 1.66) t/ha; situación que ubica a México entre los países con más alto nivel de productividad. (OP CIT).

### III.3 USOS

#### III.3.1 ALIMENTICIOS

Apreciadas por su valor nutritivo, las semillas de garbanzo tienen un alto contenido proteico, (25.3 – 28.9)% una vez descascarillado (Hulse,1991) y (20.2 - 30.5)% (Emami and Tabil, 2002); por lo que son procesadas en una gran variedad de productos antes de su consumo.

Utilizado como alimento es preparado de muy diversas formas y, de acuerdo con las costumbres de cada país, se consumen frescas (recién cosechadas) como vegetales verdes, también tostadas, fritas, asadas, hervidas; dulces y condimentadas. En forma de harina es utilizada en sopas, "dhals" y en panes; preparadas con pimienta, sal y limón se sirven como ensalada (*OP CIT*).

En países en desarrollo (Turquía y algunos de Latinoamérica) el garbanzo enlatado se usa para elaborar, entre otros, platillos fermentados. También representa una fuente importante como alimento o forraje para el ganado en regiones pecuarias, sobre todo el tipo "desi".

Ahora bien, en la gastronomía oriental tiene muchas aplicaciones, sobre todo en la región de la India. Aquí, el descascarillado es un paso básico en la preparación de productos tales como: el "dhal", el "dhal" molido para harina, la harina como base de muchos platillos tradicionales, el "dhal" o las semillas enteras preparadas con especias, semillas fermentadas.

Cuando tiernas, las semillas se mezclan en ensaladas. Las plantas tiernas y las vainas verdes son utilizadas como sustituto de las espinacas.

La harina es usada para la elaboración de productos de panadería e incluso, en la preparación de sustitutos de leche para infantes no tolerantes a la lactosa. También se ha reportado el efecto sinérgico del garbanzo sobre la calidad proteica de varios cereales como el arroz, trigo y sorgo entre otros (Daniel, 1965 y 1968).

Sin embargo es importante citar que en general, las proteínas de las leguminosas son difíciles de digerir, lo cual se supone es causado por una resistencia a la hidrólisis de las proteínas ante la acción de las enzimas digestivas (Bressani *et al*, 1974).

Respecto a los carbohidratos, la cantidad y el tipo de almidón son factores de no-digestibilidad y/o flatulencia. En este sentido, se considera que los oligosacáridos están involucrados en la flatulencia que se presenta en la alimentación de los vertebrados; ya que tienen grandes cantidades de Hidrógeno, Dióxido de Carbono y pequeñas cantidades de gas metano (Anderson *et al*, 1979; Reddy *et al*, 1980).

### III.3.2 VARIOS

Al igual que muchas plantas el garbanzo posee propiedades diversas, no solo las alimenticias, por ejemplo:

- a) A partir de la harina se prepara un adhesivo que, aunque no es resistente al agua, sirve para ensamblar láminas de madera (triplay);
- b) Casi todas las partes de la planta tienen algún uso, tal es el caso de las vainas, las hojas y los tallos que, debidamente almacenados, sirven como alimento de reserva para la gente;

- c) Las hojas producen (generalmente en las noches) un exudado ácido que tiene aplicaciones medicinales e incluso puede ser utilizado como sustituto del vinagre y también son usadas para producir un colorante que tiñe de índigo;
- d) Abundando en los aspectos medicinales, *C. arietinum* se ha reportado como un efectivo agente hipocolesterolémico, sobre todo el germinado (Geervani, 1991). Prácticamente toda la planta (hojas tallos y vainas) produce secreciones de ácidos málico y oxálico que, en la India, se utilizan como afrodisíacos; también son utilizados para tratar bronquitis, catarros, diarrea, cólera, dispepsia y flatulencia; asimismo, contra mordeduras de serpientes, insolaciones y verrugas (Duke, 1981);
- e) En algunos países como Chile, se prepara una cocción de leche-garbanzo en proporción de 1:4 en las dietas infantiles, la cual es efectiva en el control de la diarrea;
- f) Además, el garbanzo puede proporcionar un tipo de almidón que, usado al 21%, resulta muy apropiado en la industria textil, puesto que proporciona un acabado brillante a la seda, el algodón y la lana (Duke, 1981);

## **III.4 PROCESAMIENTO PARA LA COCCIÓN**

### **III.4.1 EL REMOJO**

Tal como se menciona en los párrafos siguientes, existen varios estudios que indican la relación existente entre la microestructura y la absorción de agua en las semillas de leguminosas.

En la década de los setentas, Sefa-Dedeh y Stanley (1979<sub>1</sub>) sugirieron que hay tres componentes principales (la testa, el hilum y el micrópilo) que, juntos, forman un sistema integral de absorción-remoción de sustancias de las semillas.

En la industria de los alimentos enlatados el proceso de imbibición en las semillas (que generalmente dura varias horas) es muy importante para lograr la suavización, reducir el tiempo de cocción y así uniformizar el aumento de tamaño dentro de la lata; en el cual intervienen otros factores tales como el tiempo, temperatura y dureza del agua. Se ha establecido que el equilibrio de absorción se alcanza entre las 12 y las 24 horas (dependiendo de la semilla y el cultivar).

Mayer y Poljakof-Mayber (1985) han propuesto que las proteínas son los principales componentes que determinan el índice de imbibición; sin embargo, Sefa-Dedeh y Stanley (1979<sub>1</sub>) sugieren que las semillas de las leguminosas no son homogéneas y que algunas propiedades fisicoquímicas podrían influir: contenido de proteína, tamaño del hilum, contenido inicial de agua, dureza de la testa y volumen de la semilla.

Incluso Hamad y Powers (1965) encontraron que el contenido de pectina tiene relación respecto a la hidratación; Powers (1961) menciona que la hidratación puede variar de

acuerdo al pH del líquido de remojo; Snyder (1936) mencionó que la imbibición es lenta en una solución ácida.

Por lo tanto, la "adquisición" de agua es influenciada por las características estructurales de la semilla. De estas estructuras, la fisura de la cicatriz hilar es la vía primaria para la entrada de agua, pero el sistema integral (testa, hilo y micrópilo) contribuye al proceso de imbibición.

Existen otros tipos de factores que influyen en el proceso además de la estructura propia de la semilla. Por ejemplo, Hsu *et al* (1983) determinaron que una solución "... hasta de 1% de  $\text{NaCO}_3$  muestra efectos de aceleración en el índice de absorción de agua; sin embargo, el índice decrece al aumentar la concentración. Una correlación similar ocurre cuando se aplica calor a la solución de remojo." También observaron que la dureza de la testa contribuye a la "tardanza" del remojo; efecto que puede ser disminuido con un preremojo en metanol. De hecho, observaron que el índice de absorción se incrementó cuando las semillas fueron tratadas con metanol, por lo que sugirieron que, "... la testa debe ser responsable de este fenómeno al presentar en su estructura, sustancias solubles al metanol..." *OP CIT*. Asimismo, determinaron que la máxima absorción presenta una pequeña correlación con el contenido de proteína, la densidad y el tamaño de la semilla.

#### III.4.2 TECNOLOGIA DE COCCION

Las leguminosas siempre han representado una parte importante en la dieta de todos los pueblos del mundo por su contenido proteico y debido a que son baratas, pero tienen un gran inconveniente; tardan mucho en cocerse, lo cual crea problemas en función de su

palatabilidad y de la activación de ciertos compuestos antinutricionales. Talwo *et al* (1997); Khokhar and Chanhan, (1986).

Al igual que la imbibición, el proceso de cocción también resulta integral y multifactorial por lo mismo, todos los factores considerados en el apartado anterior, así como el descascarillado y la abrasión; influyen para lograr el tiempo óptimo de cocción (Kosson *et al*, 1994; Otto *et al*, 1997). Incluso los procesos de hibridación interespecífica (Singh, 1997) y la composición de los lípidos esta relacionada con el tiempo de cocción (Takayama *et al* 1965); así como los procesos de almacenaje inadecuado pueden influir en el Tiempo Medio de Cocción ( $t_{50}$ ) (Stanley and Aguilera, 1985; Reyes-Moreno *et al*, 2000).

La problemática de la cocción de los alimentos es tan añeja como el descubrimiento del fuego, por lo mismo, la gastronomía popular ha mostrado que las semillas con testa dura deben ser sometidas a un remojo previo a la cocción. Singh, *et al* (1988).

En la literatura, estos procedimientos son referidos de manera esporádica en la primera mitad del siglo XX. (Snyder, 1936). No es sino hasta la segunda mitad del siglo cuando se realizan estudios formales de la cocción y sus procesos físico-químicos relacionados. (Morris y Wood, 1956; Siddapa 1959; Rockland *et al* 1967; Rockland, L. B. 1972; Rockland *et al*, 1975; Rockland *et al*, 1977)

Esto último es coincidente con el acelerado desarrollo tecnológico de las industrias enlatadoras de alimentos quienes por razones de economía de mercado, han desarrollado sus propios mecanismos para acelerar el tiempo de cocción.

### **III. 5 TRATAMIENTOS EXPERIMENTALES**

#### **III.5.1 SOLUCIÓN SALINA**

Desde siempre, el género humano ha procurado optimizar los procesos de obtención y/o producción de alimentos. Las leguminosas, en particular las secas, han presentado diversos problemas asociados a su consumo, por ejemplo: la necesidad del remojo y el prolongado cocimiento.

El conocimiento ancestral y las observaciones empíricas han referido el efecto que tienen las sales en la cocción de las leguminosas. Quizás partiendo de este principio, dos investigadores abordaron el tema y desarrollaron, usando la especie *Phaseolus lunatus* ("frijol de Lima"); un procedimiento químico para reducir el tiempo de cocción, del cual obtuvieron una disminución considerable de tiempo; hasta 15 minutos del t 50 total. (Rockland and Metzler, 1967).

Primero usaron una solución de sales inorgánicas Cloruro de al 2.5%; Tripolifosfato de Sodio al 1.0 %; Bicarbonato de Calcio al 0.75% y Carbonato de Calcio al 0.25% para infiltrar (al vacío) las semillas y separar las testas; después, remojaron y rehidrataron en la misma solución las semillas. Posteriormente las sometieron a cocción en agua.

Si bien sobre bases empíricas, el resultado les dio la pauta para realizar correcciones en las proporciones de sales y así, obtener un control del tiempo de cocción.

Por lo tanto, consideraron que:



- a) Los fosfatos, principalmente; son los responsables de la reducción del tiempo de cocción; mediante la disociación del Calcio para prevenir la formación de complejos metal-sal-proteína;
- b) El control del pH del medio corresponde a los carbonatos alcalinos los que, además, influyen en el sabor y en el t50;
- c) La imbibición y la disminución del t50 se deben a los anteriores agentes activos (Rockland *et al*, 1979)

Ahora bien, partiendo de la original, esta solución fue modificada y aplicada en los procesos de reblandecimiento y cocción de dos cultivares de *Phaseolus vulgaris* L.; encontrando que, la solución modificada también es reblandecedora y reduce el t50. Además, se determinó que las paredes celulares se aprecian laxas, se presentan cambios en los cuerpos proteicos y hay coalescencia de los gránulos de almidón (González *et al*, 1997); observación de la cual ya se tenían referencias. (Sefa-Dedeh y Stanley, 1979<sub>2</sub>)

### III.5.2 AGUA ALOTROPIZADA

Desde los primeros balbuceos vitales, el agua ha estado presente en las reacciones bioquímicas de todos los organismos; así, seguimos (y seguiremos) dependiendo del solvente universal.

"El agua se considera como una asociación infinita de moléculas unidas por enlaces hidrogeno. Estos enlaces tienen exclusivamente naturaleza electrostática y por lo tanto son flexibles y capaces de deformarse ante la influencia de un campo electromagnético" (Celdas Alotrópicas, 1998<sub>2</sub>).

En este contexto, es importante establecer en qué consiste el agua alotropizada. Es agua preparada con Celdas Alotrópicas (Ver ANEXO B), la cual se utiliza en la industria como desincrustante en las tuberías de los equipos de operación tales como las calderas y torres de enfriamiento; o bien, para evitar la formación de sarro, sin que por ello el agua pierda sus características físicoquímicas esenciales.

Por lo tanto, las celdas "... modifican: las propiedades dieléctricas, la solubilidad y el índice de refracción del agua..."(Apam-Martínez, J. *et al*, 2000) ya que el ángulo molecular que existe entre el Oxígeno y los Hidrógenos ( $104.5^\circ$ ) se abre hasta  $108^\circ$  (González Merino, 98), lo cual le confiere más capacidades como solvente; de tal manera que -físicamente- presenta como "...efectos finales:

- a) Aumento en la constante dieléctrica, lo cual implica disminución de la atracción ión-ión entre los sólidos y el sustrato;
- b) Disminución de la energía (del sarro), lo cual implica mayor grado de disociación y
- c) Disminución de la fuerza de interacción entre sustrato y sólidos incrustables" (Apam-Martínez, J. *et al*. 1998).

En general, las celdas generan un campo eléctrico (variable según la distancia respecto a la celda) cuya "... fuerza tiende a distorsionar la nube electrónica de las moléculas polares (agua y sales), las moléculas no polares ( $O_2$  y  $CO_2$ ) y de los iones presentes;

polarizándolos por inducción y/u orientación"(IDEM, 1998) en el medio dentro del cual estén inmersas las celdas. Por lo tanto, modifica el grado de polarización y el contenido energético del sistema constituido por el agua y las sustancias disueltas. Este incremento de polarización modifica las propiedades fisicoquímicas del sistema (agua-sarro) en cuestión.

Es importante notar que, dependiendo de la cantidad del medio, la celda (personal, familiar o industrial según se requiera) debe tener un tiempo mínimo de inmersión para que se obtengan los resultados deseados (Ver ANEXO B, para detalles).

El agua que ha recibido este tratamiento recibe el nombre de agua alotropizada y desde los años 70,s se ha usado con fines terapéuticos en la medicina alternativa; sin embargo, desde la época de las primeras maquinas de vapor ya se utilizaban las celdas (de forma esférica) para remover el sarro que se formaba en las calderas.

Tomando en cuenta que el agua alotropizada es desincrustante de cristales de sales en tuberías industriales, se consideró que el cuerpo humano también podría recibir los beneficios, ya que; a fin de cuentas el aparato digestivo, las venas y las arterias también conducen fluidos y son susceptibles de presentar arteriosclerosis, por mencionar solo un ejemplo de obstrucción en el cuerpo humano.

Partiendo del principio mencionado, se estimó que éste tipo de agua también podría "remover" algunas sustancias cotiledonarias y por tanto influir en el tiempo de cocción .

## IV OBJETIVOS

### GENERAL

Determinar los cambios en la microestructura del cotiledón, al evaluar dos métodos de remojo (solución salina y agua alotropizada).

### PARTICULARES

1. Correlacionar los tiempos de imbibición con los cambios citoestructurales.
2. Obtener los tiempos medios de cocción óptimos en agua destilada (testigo), agua alotropizada (experimental 1) y solución salina (experimental 2).
3. Relacionar los tiempos de cocción con los tiempos de remojo de las semillas.

## V METODO

Antes de efectuar la descripción de métodos utilizados es importante notar que se realizó el Diagrama de Flujo General, el cual se muestra en el Anexo A.

### V.1 CURVA DE IMBIBICIÓN

Para determinar la curva de hidratación se registró el incremento de peso por la adquisición de agua en las semillas aplicando la metodología de Hsu *et al.* (1983); adaptada para semillas de garbanzo.

Se procedió a colocar en un recipiente de vidrio -aproximadamente- 18.0 g de semillas frescas y certificadas del cultivar TUBUTAMA-88 (Origen: Los Mochis, O.I. 94/95); totalmente inmersas en agua destilada a temperatura ambiente.

Los tiempos para determinar la ganancia en peso, por la cantidad de agua que entra a la semilla, fueron: (0, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 5.0, 8.0, 12.0, 18.0, 24.0, 36.0 y 48.0) horas. Al término de cada período de tiempo las semillas: Se escurrieron, se secaron con toallas de papel para retirar el agua superficial y se pesaron.

El incremento en peso (absorción de agua) fue calculado como la diferencia entre el peso obtenido en ese momento y el peso original.

Con este procedimiento se hicieron cuatro repeticiones.

### V.2 PRUEBA DE IMBIBICIÓN "*in situ*"

Se considera que el tetraóxido de Osmio, si bien es fijador de tejidos, también presenta (macroscópicamente) las características de un contrastante (tiñe de negro). Partiendo de este principio, esta prueba se realizó utilizando una solución de tetraóxido de

osmio al 1% para verificar si, como lo reporta la literatura; la hidratación avanza de manera concéntrica desde la epidermis hacia el interior de los cotiledones. (Varriano-Marston and Jackson, 1981).

Se procedió a sumergir las semillas en la solución citada, durante (3.5, 6.0, 12.0, 24.0 y 36.0) horas, en condiciones de refrigeración (4° C). Al final se desechó la solución, se practicó un enjuague en el amortiguador de Colidina, se deshidrató en etanol al 30°, 50° y 70°; posteriormente se separaron los cotiledones para mostrar el grado y patrón de penetración del fijador a partir de la periferia.

Los resultados se fotografiaron.

### V.3 TIEMPOS DE REMOJO (tR)

Los tiempos de remojo (tR) se realizaron para Agua Destilada (AD), como testigo y Agua Alotropizada<sup>1</sup> (AA) y Solución Salina (SS) como experimentales (1 y 2 respectivamente) a (3.5, 6.0, 12.0, 24.0 y 36.0) horas.

Se tomaron 30 semillas al azar. Se agregaron 200 ml de líquido de remojo y se tapó herméticamente. A partir de este momento dio inicio el tR. Al finalizar el correspondiente tR se procedió a la cocción y posterior fijación de las semillas.

Las pruebas se realizaron por cuadruplicado.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

<sup>1</sup> Se utilizó una versión de celda industrial de 45 x 2.5 cm, introduciéndola durante 10 a 12 minutos en 1000 ml de agua destilada, de la cual solo se utilizaban 200 ml para el remojo de las semillas.

#### V.4 TIEMPOS MEDIOS DE COCCIÓN (t 50)

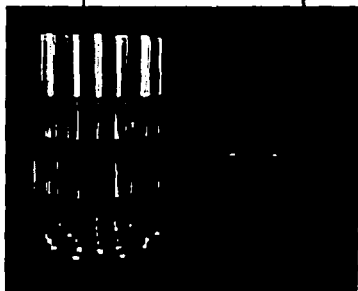
En una olla de peltre de 5 lt de capacidad se agregaron 4 lt de agua destilada y se calentaron hasta ebullición en una parrilla eléctrica "Hamilton Beach", modelo 814-4 de 750 watts.

Se introdujo el "cocinador" Mattson (Mattson, 1946), modificado por Tovar y Esquivel (Tovar, 1997) (Figuras 5, 6 y 7) con las semillas previamente remojadas. A partir de ese momento se consideró el tiempo inicial ( $T_0$ ); procurando mantener la ebullición con calor constante durante el tiempo que duró la cocción.

Figura 5. Implementos del "cocinador".

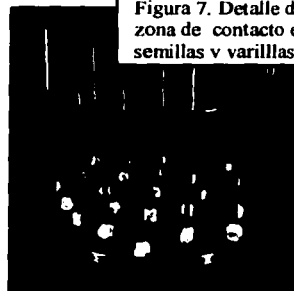


Figura 6. "Cocinador" Mattson armado y listo para la cocción



El registro del tiempo se hizo cuando las varillas habían perforado la mitad (50%) de las semillas (13 en este caso, ya que la

Figura 7. Detalle de la zona de contacto entre semillas v varillas



capacidad del "cocinador" es de 25). Se consideró que en éste momento habían alcanzado el Tiempo Medio de Cocción ( $t_{50}$ ); lo cual coincide con la técnica reportada por Reyes *et al*,

(2000). Es importante comentar que el peso-promedio conjunto de las varillas y los sobrepesos fue 101.5929 g.

Los pasos anteriores se realizaron para cada uno de los cinco tiempos de remojo en agua destilada, agua alotropizada y solución salina. También este proceso se realizó por cuadruplicado (100 semillas por cada tiempo y tipo de remojo).

Los datos se ordenaron en una tabla para construir con ellos una gráfica.

## V.5 PROCESAMIENTO DE MATERIAL PARA MICROSCOPIA OPTICA

A las semillas **a, b, c** (Figura 8) sometidas a los distintos tipos de remojo, previamente se les retiró la testa, se separaron los cotiledones (**d**) y después se realizaron cortes de los cotiledones (**e**), en rebanadas transversales (**f**) de aproximadamente 1 mm de grosor, de los cuales, a su vez; se tomaron secciones radiales no mayores de 3 mm de grosor, a partir de la epidermis externa del cotiledón (**g**) (Figura 8).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



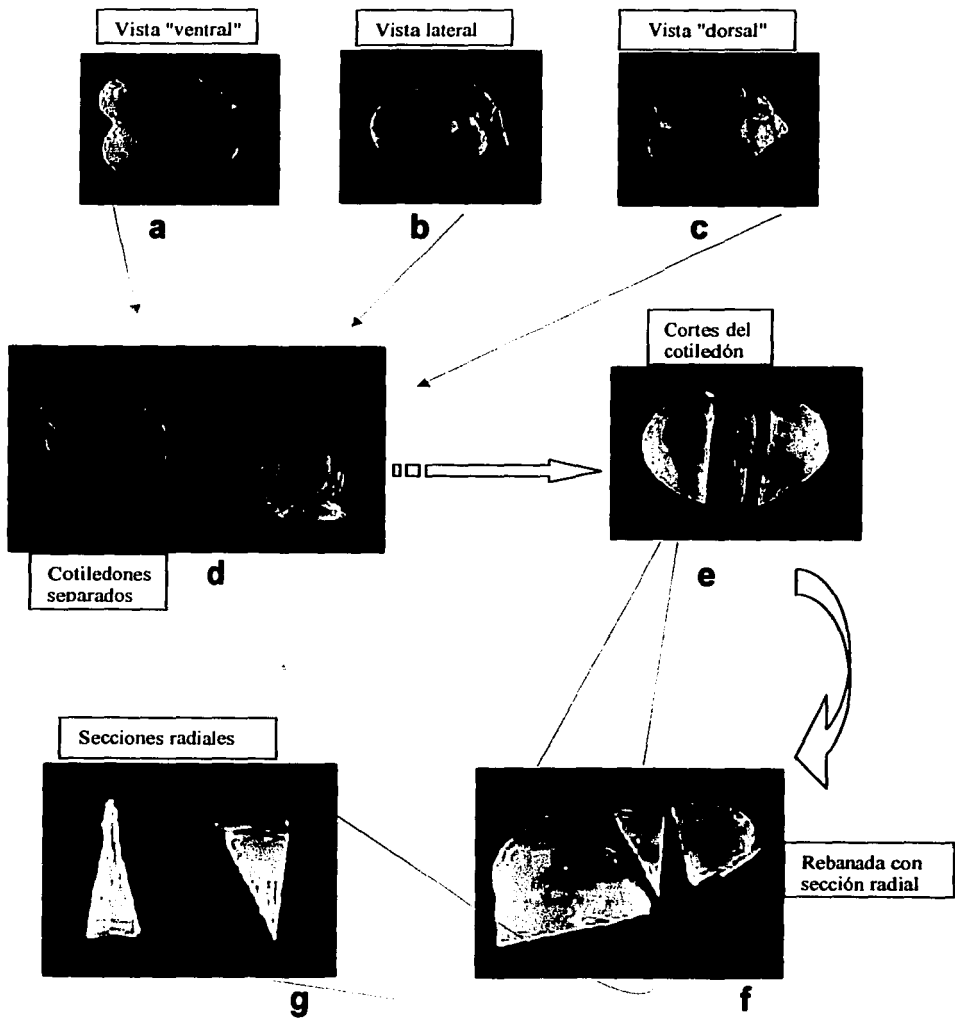


Figura 8. Secuencia del seccionado de las semillas para la obtención de cortes ultrafinos.

## V.6 PROCESO DE INCLUSION PARA ULTRAMICROTOMIA

Una vez obtenidas las secciones requeridas de los cotiledones se procedió a la fijación, utilizando Glutaraldehído-Paraformaldehído 3%-1.5%, en solución amortiguadora de Colidina 0.05M con Sacarosa 0.12M, a ph 7.2.

Se realizaron 10 enjuagues de 5 minutos cada uno con el mismo amortiguador.

Se hizo posfijación en tetraóxido de Osmio al 1%, en el amortiguador de Colidina.

Nuevamente se enjuagó en la forma explicada anteriormente y se procedió a la deshidratación en alcoholes graduales: (30, 50, 70, 85 y 96)% durante 15 minutos cada cambio, más tres cambios en alcohol absoluto (20 minutos cada uno).

Se realizó la preinclusión en resina LR White de Polysciences, Inc. (Ruzin, 1999), al (25, 50 y 75)% diluidas en alcohol absoluto, durante 4 horas cada cambio. La inclusión se efectuó en resina LR White pura (3 cambios de 20 minutos cada uno).

Las secciones de tejido se incluyeron en LR White puro en cápsulas de inclusión de gelatina del número 1 (0.5 ml) y se polimerizaron durante 3 horas, a 65° C; se obtuvieron cortes entre 700 nm y 2500 nm de grosor, en un ultra micrótomo LEICA ULTRACUT R.

Los cortes se tiñeron con Azul de Toluidina al 0.5 % más Safranina al 1.0%.

## V.7 PRUEBAS HISTOQUÍMICAS

Para conocer la naturaleza química de las citoestructuras se realizó una serie de pruebas histoquímicas en los cortes obtenidos, cuyo propósito fue identificar la presencia de polisacáridos insolubles, almidón, taninos y proteínas. Las pruebas realizadas fueron las siguientes.

1. Vainillina: Tiñe de color rojizo los taninos condensados y otros compuestos susceptibles a la oxidación.
2. Permanganato de Potasio: Tiñe de café los polifenoles y polisacáridos insolubles(Hall and Hawes, 1991).
3. Yodo-Yoduro de Potasio (Lugol): Tiñe de morado y café los almidones (Johansen, 1940).
4. Ácido Peryódico-Reactivo de Schiff (APS)+ Azul Negro de Naftol: Tiñe de magenta los polisacáridos insolubles (Lopez-Curto *et al*, 1998) y los ácidos nucleicos; las proteínas se observan en azul-negro.
5. Azul de Toluidina-Safranina: Para evidenciar estructura general y lignina (Esquivel Huesca, C.: Comunicación personal).

## V.8 MICROGRAFÍAS

De los resultados obtenidos se tomaron fotomicrografías en blanco y negro con rollo KODAK 5052 TMX y en color con rollo KODAK GOLD ASA 100-6, empleando. Para observar y seleccionar los campos de las preparaciones, se utilizó el sistema de campo claro de un fotomicroscopio OLYMPUS Modelo PROVIS AX 70.

## V.9 ESTADÍSTICA

Los resultados obtenidos en los tiempos de cocción, se analizaron con un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de probabilidad  $\alpha = 0.05$ , utilizando el programa estadístico STATGRAPHICS (versión 5.0); para correlacionar los datos obtenidos con los parámetros de confiabilidad estadística.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## VI RESULTADOS

### VI.1 PROCESO DE IMBIBICIÓN

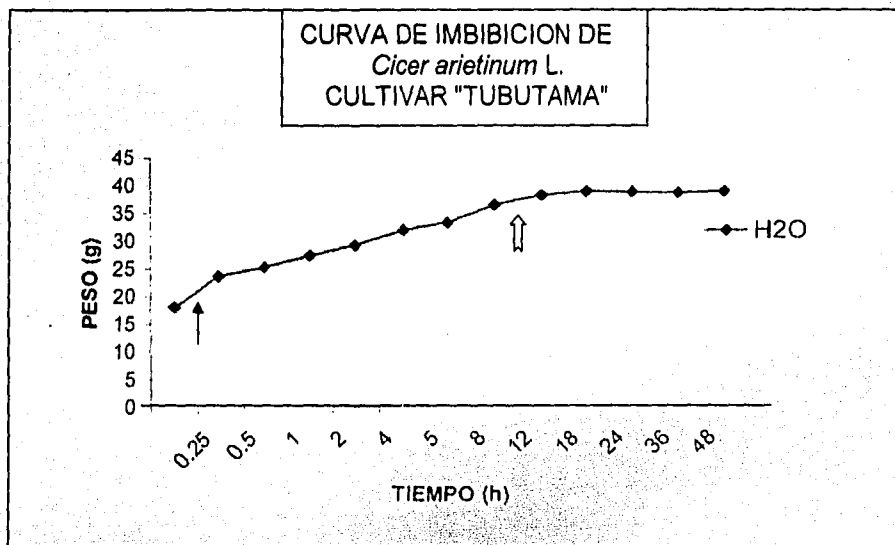


Figura 9. Resultado de la imbibición del cultivar "Tubutama" de *C. arietinum* L. a diferentes tiempos.

Los resultados del proceso de imbibición mostraron una curva (Figura 9), cuya fase inicial es rápida en los primeros 15 minutos (↑) pero, a partir de éste momento hasta las 12.0 horas, se presenta una fase paulatinamente progresiva y de aquí en adelante se alcanza el nivel máximo de hidratación (↑↑); así, desde las 12.0 horas el comportamiento de la curva es asintótico hasta las 48.0 horas, comportamiento concordante con los reportes de la literatura, incluyendo la imbibición en soluciones salinas (Sefa-Dedeh y Stanley, 1979; Klamczynska *et al*, 2001; Hung *et al*, 1993).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## VI.2 INTERPRETACION DE LOS PROCESOS ( $t_{50}$ ) Y ( $t_R$ )

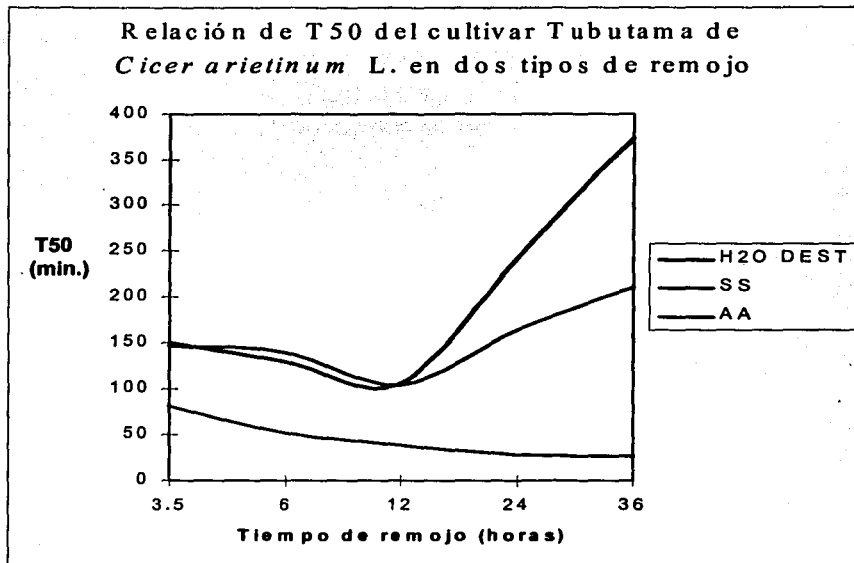


Figura 10. Gráfica obtenida al relacionar los tipos de remojo con los tiempos de cocción.

Como se observa en la figura 10, se muestra la relación obtenida al contrastar los tiempos medios de cocción contra los tiempos de remojo, de cuyas curvas se puede afirmar que:

- Los tiempos de cocción con agua destilada (AD) y con agua alotropizada (AA) disminuyen desde 150 min. aproximadamente en 3.5 horas de remojo, hasta 105 min. en 12.0 horas de remojo, sin embargo, tienden a aumentar el  $t_{50}$  hacia las 24.0 y 36.0 horas, en especial con AD;
- El aumento en  $t_{50}$  es directamente proporcional al aumento de  $t_R$ , después de 12 horas de remojo en AD y AA;

c) En SS el decremento de  $t_{50}$  es inversamente proporcional al incremento de  $t_R$ , desde 3.5 hasta 24.0 horas

Al vincular el proceso de imbibición, el tiempo de remojo y el tiempo de cocción se puede observar que hay correlaciones interesantes, puesto que es evidente la **coincidencia** entre el máximo nivel de imbibición (12.0 horas) y el  $t_{50}$  óptimo.

## VI.3 EFECTO DE AD, AA Y SS EN LAS CELULAS COTILEDONARIAS<sup>1</sup>

### REMOJO DE 3.5 HORAS (Figura 11)

En el remojo de AD la **pared celular** se aprecia íntegra, de grosor uniforme y con plasmodesmos evidentes; en SS (figura 11.z) la diferencia se observa en los espacios interplasmodésimicos, los cuales corresponden con separaciones de la membrana respecto a la pared semejando "ondulaciones". En esta estructura lo que más resalta como cambios es el remojo de AA (figura 11.y), puesto que ahí se observa que el grosor no es uniforme, hay rupturas, vacíos casi totales y separaciones irregulares entre membrana y pared en algunas células.

Respecto a las **esquinas** de AD, a diferencia de AA y SS, es importante notar que presentan abundante material de origen proteico y además se prolongan formando espacios intercelulares.

Los **gránulos de almidón** remojados en AD muestran la forma elipsoide y/o esferoidal característica de las leguminosas (Sefa-Dede and Stanley, 1979<sub>3</sub>; Otto *et al*, 1997) y se observan íntegros y bien definidos (figura 11.x); pero en AA (figura 11.y) empiezan a perder las formas observadas en el testigo, hay inicios de coalescencia y tendencia a la elongación. En general, en SS (figura 11.z) se aprecian normales en cuanto a forma, pero en algunos hay indicios de coalescencia y en otros existe una zona anular en la periferia.

En cuanto a los **cuerpos proteicos** en AD, éstos se notan sin cambios (11.x), tal como lo reporta la literatura (*OP CIT*). En AA, algunos pierden esfericidad y contenido adoptando formas irregulares con inicios de coalescencia (figura 11.y); la diferencia en SS

<sup>1</sup> NOTA: Las figuras respectivas aparecen en el siguiente apartado (VI.5)

consiste en cambios de fotodensidad entre ellos y menor fotodensidad respecto al testigo (figura 11.z).

### **REMOJO DE 6.0 HORAS (Figura 12)**

Al analizar la **pared celular** y los cambios en sus estructuras inherentes se observa que en el tratamiento de AD (figura 12.x) y en AA, su grosor es uniforme aunque presenta algunas rupturas, en algunas vecindades celulares la zona correspondiente a la lamina media es mas fotodensa y los plasmodesmos son evidentes y bien definidos; en cambio en el remojo de SS, las paredes se observan más laxas ya que no son tan evidentes la zona de la lamina media y los plasmodesmos.

Referente a las **esquinas**. En AA no muestran contenido y sus formas son irregulares; en AD se observa en ellas algo de material probablemente proteico y en otras zonas se prolongan para formar espacios intercelulares; en el tratamiento de SS muestran abundante contenido de naturaleza proteica y además, se han formado espacios intercelulares.

En cuanto a los **gránulos de almidón** de AD, ahí se aprecian ovals en general y con la periferia bien definida; en AA su forma tiende a ser elongada y mantienen la definición periférica; en los gránulos de SS algunos empiezan a perder la forma y en general la periferia se observa indefinida.

Al comparar los **cuerpos proteicos** de los tres tipos de remojo es posible detectar que en AD están redondeados en general, pero con aumento en el tamaño (respecto a AD-3.5) y con tinción diferencial pues se observa un cambio de fotodensidad citoplasmática intra e intercelular; en AA la tinción y coalescencia son intercelularmente diferenciales; respecto a SS, la diferencialidad de la tinción es intracelular, en general hay pérdida de la forma esférica



y en algunos se observa en su interior un cuerpo esférico mas fotodenso (probablemente globoides).

### REMOJO DE 12 HORAS (Figura 13)

Al llegar a ésta etapa del remojo, en la **pared celular** del tratamiento de **AD**, se observa de grosor uniforme y en algunas células se produce un retraimiento considerable de la membrana plasmática respecto a la pared; en dicho espacio se muestra material granulado de diversos tamaños y de naturaleza proteica, además; la zona de lámina media (lo mismo que en AA) es muy fotodensa. Cuando se compara lo anterior con el tratamiento de **AA**, se encuentran algunas diferencias, tales como la separación uniforme entre la pared y la membrana con presencia de material proteico muy fino. El tratamiento de **SS** se distingue: la zona de lamina media es menos evidente y la pared, aun cuando está íntegra, se aprecia laxa en comparación con los otros remojos; si se identifican plasmodesmos y; se forman grandes espacios intercelulares con contenido proteico abundante.

La estructura de las **esquinas** conserva la forma en los tratamientos de AD y AA, pero en éste último, los ángulos se ven muy fotodensos y en el primero algunas tienen material de origen proteico; diferenciándose un poco, en el tratamiento de SS se muestra pérdida de la forma y material proteico bien definido.

Al revisar los **gránulos de almidón** se encontró que en AD, sólo pocos tienen forma oval, la mayor parte se observan deformados y coalesciendo; en cambio en AA y SS, todos presentan periferia indefinida y solo hay inicios de coalescencia.

Relativo a la forma de los **cuerpos proteicos**: En SS algunos conservan su individualidad pero no la forma; los de AA muestran coalescencia total y; en general en AD conservan la forma, pero se aprecian con contenido granular y de mayor tamaño con relación

al remojo de 3.5 horas. Destaca la tinción diferencial en AA y AD, con cambios de fotodensidad en este último.

### REMOJO DE 24 HORAS (Figura 14)

Con relación a las **paredes celulares** se puede afirmar que: En SS se distinguen más delgadas respecto de AD y AA; son más fotodensas las regiones de la lámina media en AD y AA; los plasmodesmos son muy evidentes en SS; hay espacios intercelulares conteniendo material de origen proteico en los tres tratamientos, pero en AD y AA es abundante. Es importante notar que en AA, algunas zonas presentan rupturas y separación de paredes entre células contiguas.

Al igual que el caso de los espacios intercelulares, las **esquinas** en AD y AA también muestran abundante material de origen proteico. La pérdida de la forma es evidente en los tres tratamientos, sobre todo en SS, donde se ven colapsadas.

Refiriendo los **gránulos de almidón**, se observa que los de AD son ovales y con inicios de coalescencia, mientras que los de AA y SS presentan coalescencia generalizada. Además, en SS la periferia está indefinida.

Los cambios que se detectan en los **cuerpos proteicos** de AD son: Tinción diferencial intracelular; conservan la forma, pero el tamaño es mayor respecto al remojo de 3.5 horas; contrastando, los de AA y SS se presentan deformados y en coalescencia total. Asociados a estas estructuras se identificaron polifenoles en la región de la matriz proteica del tratamiento de AA, lo cual no sucede en los otros dos tratamientos.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## REMOJO DE 36 HORAS (Figura 15)

En él último tiempo de remojo, las **paredes celulares** de AD Y AA se muestran delgadas y de grosor uniforme, lo cual no sucede en SS pues ahí; se observan muchas zonas destruidas y en las zonas donde está presente, es laxa con separaciones entre células contiguas. Diferenciándose de los otros dos tratamientos, en AA se aprecia una separación entre la membrana y la pared que contiene material muy fino de origen proteico.

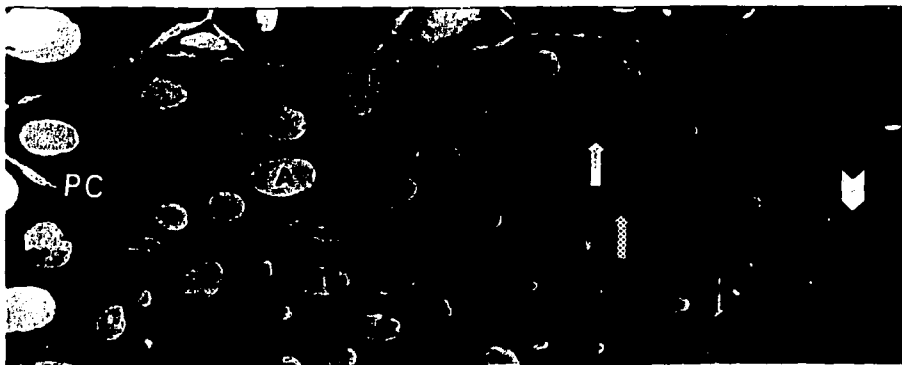
Las **esquinas** en AD tienen poco material muy fotodenso y de origen proteico, en cambio; en AA y SS, se ven vacías, con rupturas y algunas se prolongan formando espacios intercelulares.

Respecto a los cambios de los **gránulos de almidón**, en AD se detectó que (en general) se ven "reestructurados" en cuanto a forma y que no son nítidos en la periferia; síntoma de degradación. En AA coalescen algunos, los no coalescentes se aprecian más turgentes y con pérdida de nitidez, con relación a los remojos anteriores; en SS la coalescencia es generalizada, así como la indefinición en la periferia.

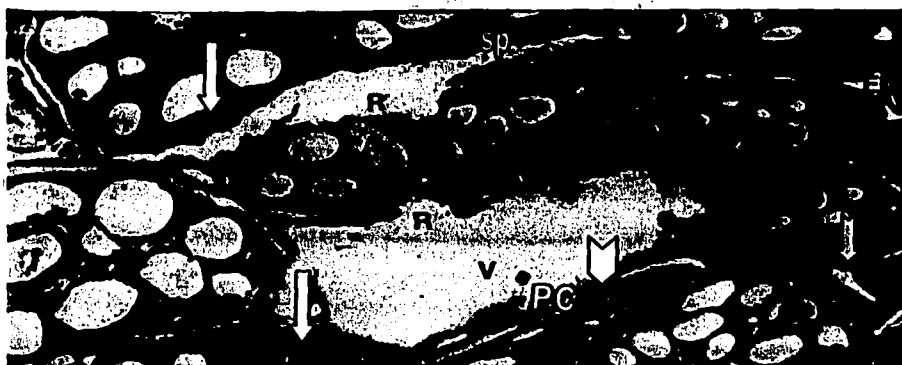
Con relación a los **cuerpos proteicos**, es posible afirmar que en los tratamientos de AD y AA se observan "recuperados" en cuanto a forma, pero no en cuanto a contenido pues presentan distinta fotodensidad. En AA, la mayoría presentan un cuerpo globoso más fotodenso.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

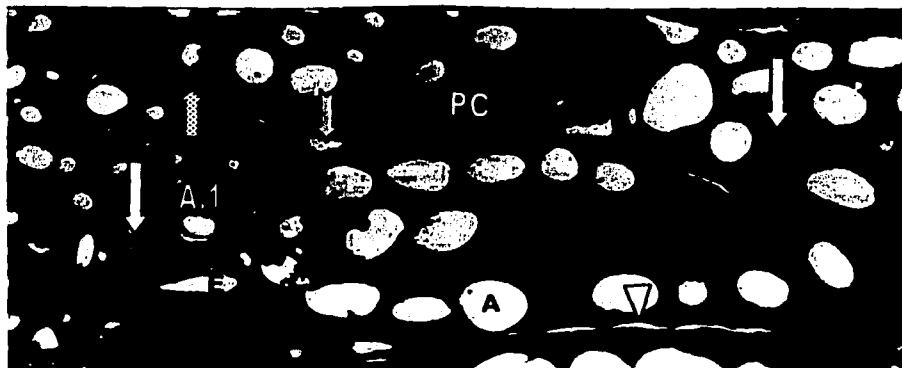
9.X



9.Y

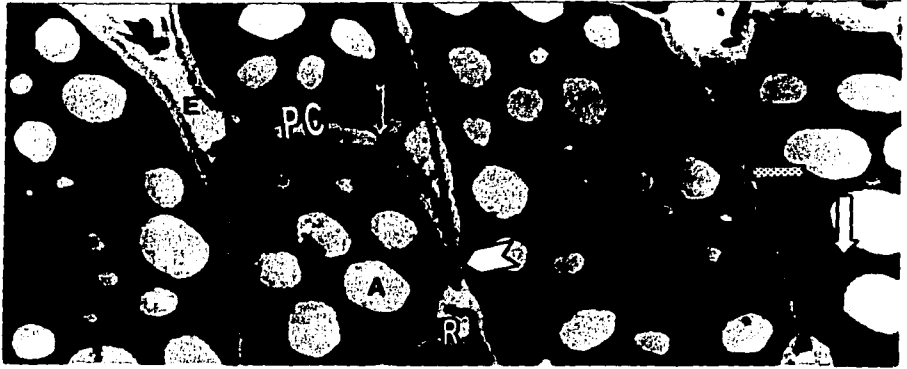


9.Z

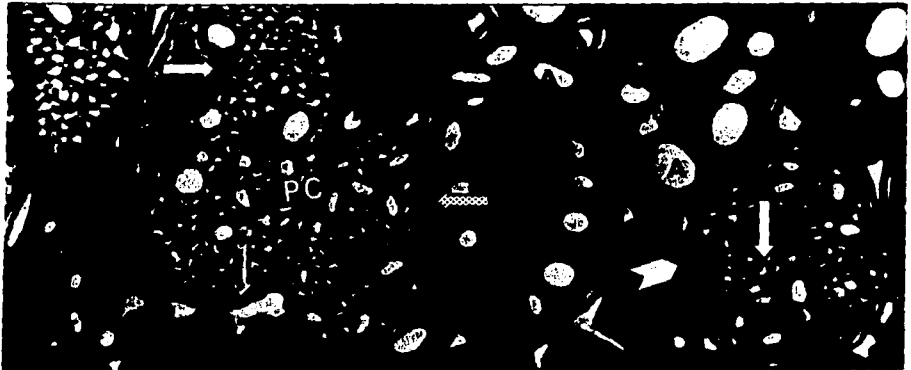


**Figura 9 Remojo de 3.5 horas (640X). Agua Destilada Fig. 9. X ; Agua Alotropizada Fig. 9.Y ; Solución Salina Fig. 9.Z (800X).** PC Pared celular; A gránulos de almidón; ↑ cuerpos proteicos; ⊞ plasmodesmos; ↓ esquinas; ▽ "ondulaciones"; R roturas; V vacios; E espacios intercelulares; U lamina media; A.1 probables globoides; Sp separaciones.

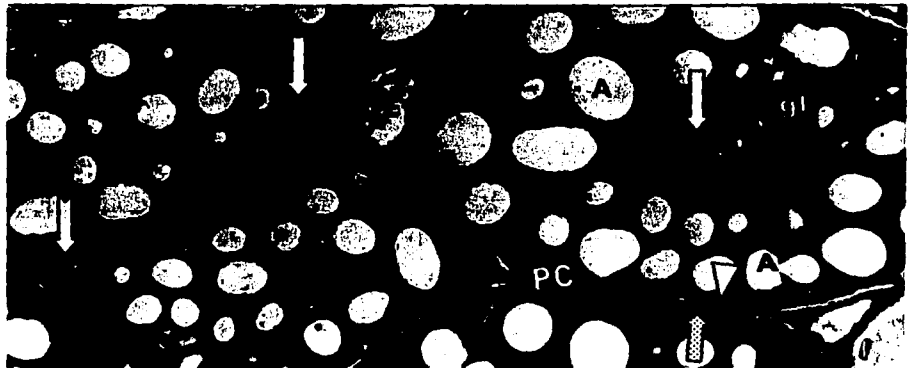
10.X



10.Y

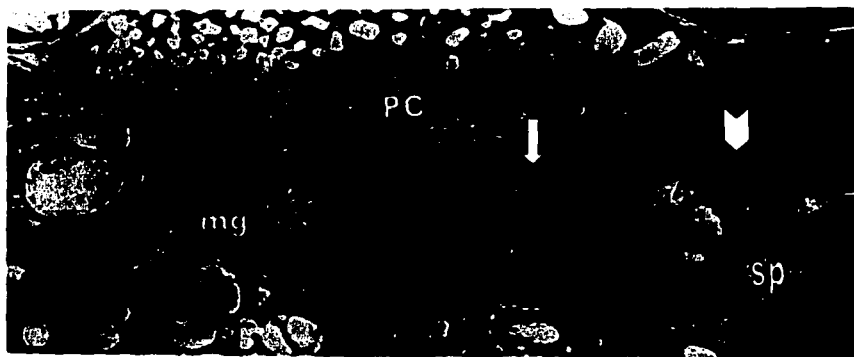


10.Z



**Figura 10 Remojo de 6.0 horas** Agua Destilada Fig. 10.X(800X) Agua Alotropizada Fig. 10.Y (640X) ; Solución Salina Fig. 10.Z (800X).PC Pared celular; □ cuerpos proteicos; A gránulos de almidón; Σ → esquinas; E espacios intracelulares; < ← lámina media; gll probables globoides; ↑ plasmodesmos; ▽ "ondulaciones".

11.X



11.Y



11.Z

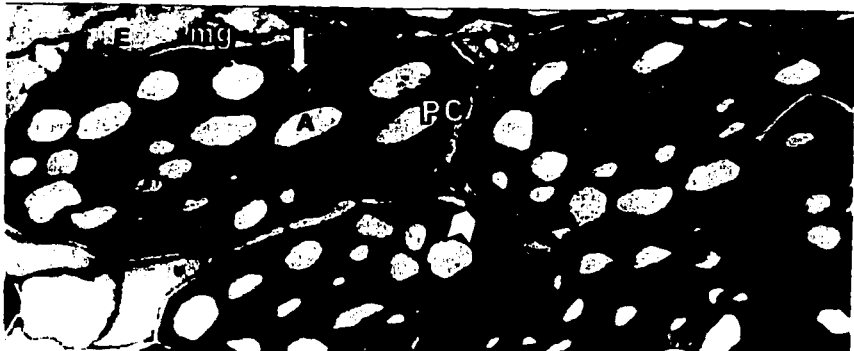
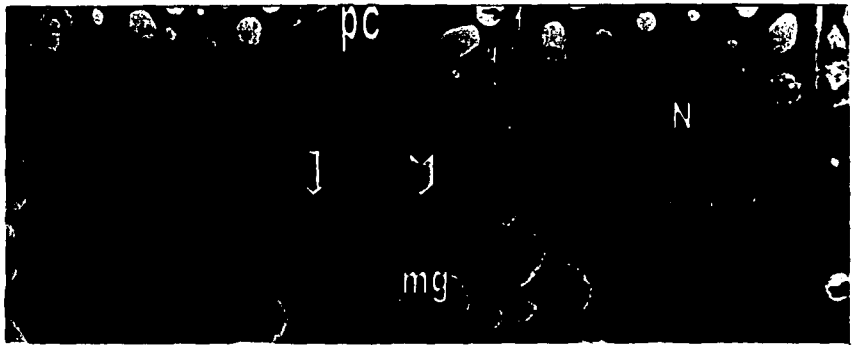


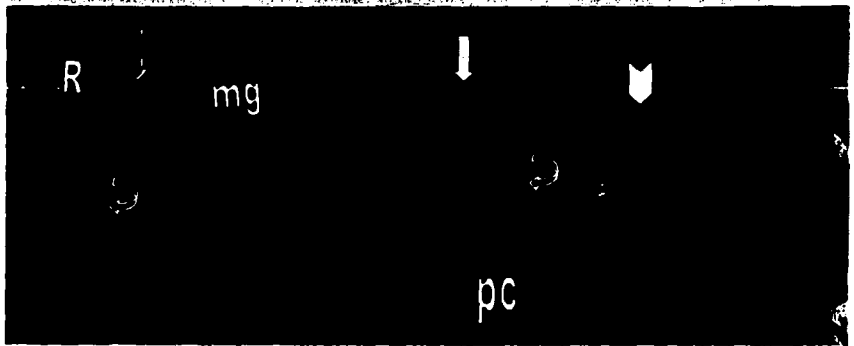
Figura 11 Remojo de 12.0 horas. Agua Destilada Fig. 11.X(640X) Agua Alotropizada Fig. 11.Y (800X); solución Salina Fig. 11.Z (640X). **PC** Pared celular; **Σ** lámina media; **S** separaciones; **V** vacíos; **A** gránulos de almidón; **⇒** esquinas; **E** espacios intercelulares; **⇨** cuerpos proteicos; **mg** material granular; **▽** "ondulaciones".

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

12.X



12.Y



12.Z



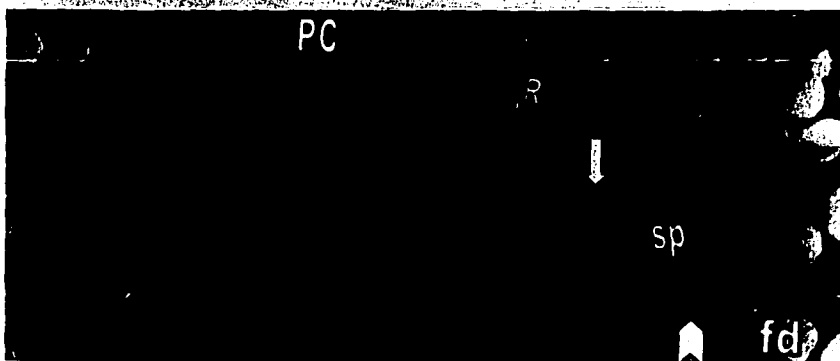
Figura 12 Remojo de 24.0 horas (640X) Agua Destilada Fig. 12.X Agua Alotropizada Fig. 12.Y; Solucion Salina Fig. 12.Z. . PC Pared celular; U Lamina media; R Roturas; E espacios intercelulares; P Plasmodesmos; MG Material granular; J Cuerpos proteicos; > Polifenoles; A Gránulos de almidón; a gránulos coalescentes; J Esquinas; N Núcleo en interfase.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

13.X



13.Y



13.Z

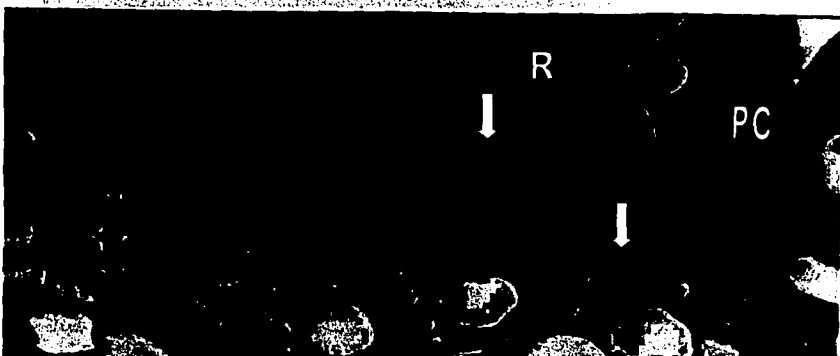


Figura 13 Remojo de 36.0 horas (640X). Agua Destilada Fig. 13.X ; Agua Alotropizada Fig. 13.Y ; Solucion Salina Fig. 13.Z (800X). PC Pared celular; sp Separación entre membrana y pared; R Roturas; ↓ Plasmodesmos; > Lámina media; ⇨ Esquinas; E Espacios intercelulares; fcd Mayor fotodensidad en lámina media; A Gránulos de almidón; ⇨ Cuerpos Proteicos.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



## VI.5 ANÁLISIS DE PRUEBAS HISTOQUÍMICAS

TINCION	EVIDENCIA	RESULTADOS
K Mn O <sub>4</sub> (Permanganato De Potasio)	Polifenoles Y Polisacáridos Insolubles	+
VAINILLINA	Taninos condensados	-
LUGOL	Almidones	+
A P S + A N N (Acido Peryódico-Reactivo de Schiff + Azul Negro de Naftol)	Polisacáridos Insolubles, Proteinas Y Acidos Nucléicos	+
A T - S Azul de Toluidina- Safranina	Metacromática	+

Tabla 1. Pruebas histoquímicas realizadas.

El Permanganato de Potasio (KMnO<sub>4</sub>) resultó positivo, hecho que demuestra la presencia de polifenoles en general y polisacáridos de tipo insoluble; puesto que se notan de color café en algunos espacios intercelulares y los gránulos de almidón (Figura 16).

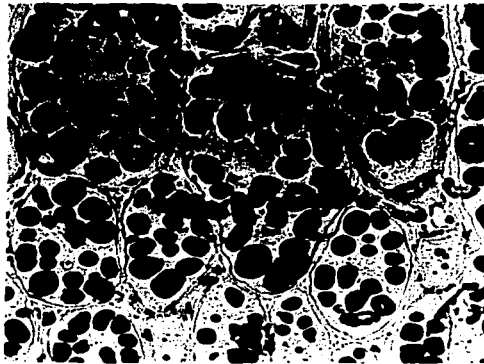


Figura 16. Prueba de KMnO<sub>4</sub>.

En cambio, la vainillina resultó negativa; lo cual sugiere que los polifenoles de los cotiledones no son del tipo condensado, sino hidrosolubles puesto que no se localizaron en las células cotiledonarias (Figura 15).

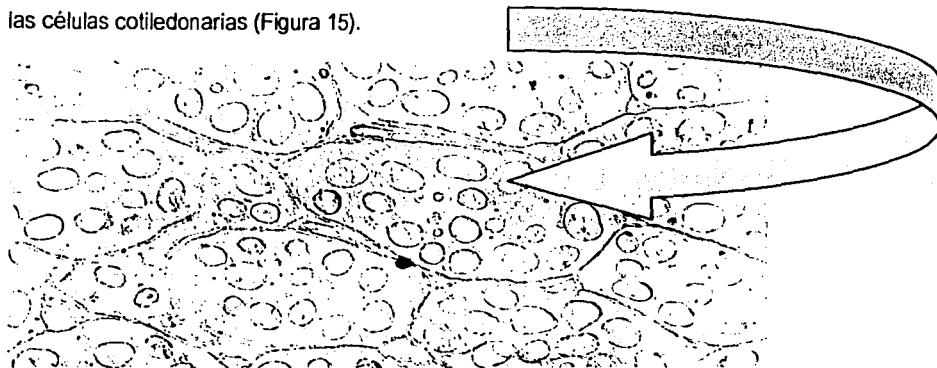


Figura 17. Prueba de Vainillina

Una de las tinciones más demostrativas (Figura 18) es la del Ácido Peryódico-Reactivo de Schiff + Azul Negro de Naftol (APS + ANN) pues mostró en color magenta las zonas respectivas a los polisacáridos insolubles (en especial los gránulos de almidón), así como de los que se encuentran en las paredes celulares y también la presencia de ácidos nucleicos del nucléolo; el cual también se detecta con esta tinción (Ruzin, 1999. Pag 151). El

Azul Negro de Naftol sirvió para mostrar la presencia de proteínas en color azul en el citoplasma y en el interior del núcleo debido a la presencia de las histonas.

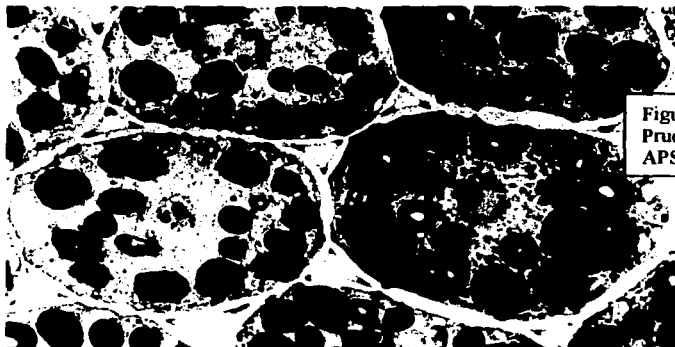


Figura 18.  
Prueba de  
APS+ANN

Por último se realizó una tinción doble (Figura 19) con Azul de Toluidina + Safranina (AT + S). El Azul de Toluidina es un colorante de tipo metacromático, es decir, pone en evidencia -con diferentes tonalidades- la citoestructura en general; mientras que la Safranina se utiliza para demostrar la presencia de lignina, cuya localización está en las paredes celulares y en las paredes celulares y en las esquinas.

Con la prueba de Yodo-Yoduro de Potasio (Lugol) se obtuvo un resultado positivo, ya que se observaron los gránulos con tonalidades violáceas oscuras. No se muestra la foto.

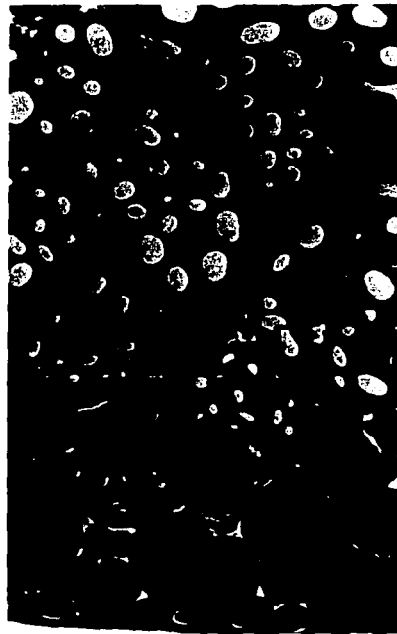


Figura 19. Prueba metacromática con Azul de Toluidina y Safranina.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## VI.6 ANÁLISIS DE PRUEBA DE IMBIBICIÓN "in situ"

Como se muestra en la figura 20, la imbibición no es **concéntrica en los cotiledones**, lo cual confirma las propuestas de la literatura, con relación a la **multicausalidad en las diferencias del remojo de las semillas**.

En general, desde las 3.5 hasta las 36.0 horas, las testas mostraron el color oscuro característico del **contraste con el Osmio**.

Se observó que a las 3.5 horas de remojo, el contraste inicia desde la **periferia**, (flechas en **a**).

En el remojo de 6.5 horas, se aprecia un avance **concéntrico** (desde la periferia) con mayor contraste (**b**).

Respecto a la imbibición de 12.0 horas, se apreció **diseminado** el contrastante (de forma tenue) en casi todo el cotiledón, salvo tres zonas más **fotodensas** y con ligera tendencia concéntrica(**c**).

El remojo de 24.0 horas (**d**) resultó interesante, puesto que rompe con el esquema del avance concéntrico, al observarse dos zonas ☆ mucho más contrastadas que el resto del cotiledón.

En 36.0 horas de imbibición se muestra un contraste **tenue y generalizado** en el cotiledón(**e**), pero ya no se observan zonas más contrastadas ni el avance concéntrico.

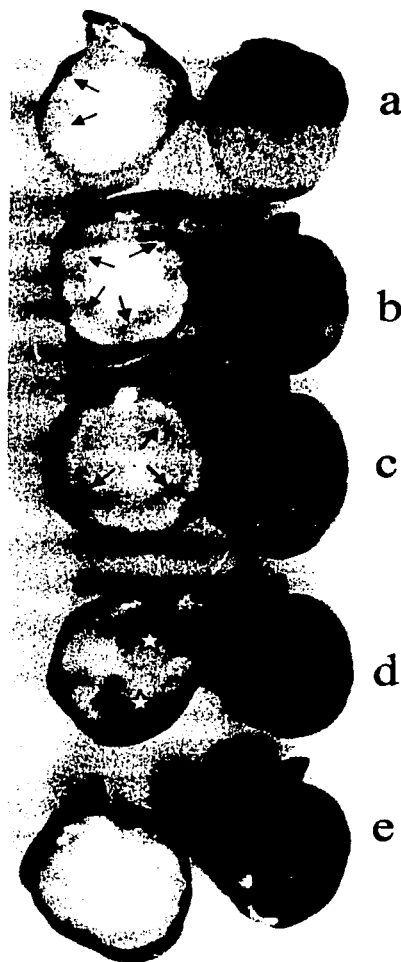


Figura 20. Remojo "in situ" con tetraóxido de osmio al 1%, en agua destilada: 3.5 hr, **a**; 6.0 hr, **b**; 12.0 hr, **c**; 24.0 hr, **d** y 36.0 hr, **e**.

## VI.7 ANALISIS ESTADISTICO

Los resultados obtenidos respecto al t50 de las semillas de *C. arietinum* con diferentes soluciones y diferentes tR, mostraron diferencias significativas entre los tratamientos (TABLA 2); cuyos valores son: Fc = 46.830; N.S. = 0.0000; Fc = 9.155; N.S. = 0.0000.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	Fc	N.S.
SOLUCIONES DE REMOJO	254058.13	2	127029.07	46.830	0.0000 *
TIEMPO DE COCCION	99335.07	4	24833.77	9.155	0.0000 *
ERROR	143764.53	53			
TOTAL	497157.73	59			* SIGNIFICATIVO

TABLA 2. Análisis de Varianza (ANOVA)

La prueba de Rango Múltiple (TABLA 3) mostró que las semillas remojadas en Solución Salina requieren menos t 50, respecto al Agua Alotropizada y al Agua Destilada.

NIVEL	CONTEOS	PROMEDIO (t50)	
SOLUCION SALINA	20	49.0	*
AGUA ALOTROPIZADA	20	153.4	*
AGUA DESTILADA	20	200.4	*

TABLA 3. Prueba de Rango Múltiple que muestra los resultados estadísticos según el tipo de remojo. (\*) = SIGNIFICATIVO

Con relación a los tR, la Prueba de Rango Múltiple mostró que la diferencia significativa entre los tiempos de remojo se manifestó hasta las 36.0 horas.

tR (hrs.)	Nivel	Conteos	Promedio	N. S.
12.0	3	12	83.16667	*
6.0	2	12	107.33333	* *
3.5	1	12	126.00000	*
24.0	4	12	144.83333	*
36.0	5	12	203.33333	*

TABLA 4: Prueba de Rango Múltiple de los Tiempos de Cocción

Del análisis de las tres tablas anteriores se deduce, con relación a la significatividad, que las muestras o "poblaciones" están separadas numéricamente por efecto de los tratamientos aplicados.

## VI.8 ANALISIS ECONÓMICO-COMPARATIVO DE LOS t50

Dado que los aspectos económicos no se deben desvincular de los aspectos científicos de una investigación, se pueden hacer una serie de interesantes observaciones de la tabla 5; en cuanto a la disminución en los tiempos de cocción y por tanto en la energía empleada, con el consecuente ahorro monetario.

Por ejemplo, la columna t 50 presenta el tiempo utilizado en cada cocción y la columna "%" muestra el porcentaje de tiempo ahorrado, respecto al mayor tiempo de cocción (373 minutos en AD) al comparar el mayor t 50 (AD-36 en este caso) contra los otros t 50; da una idea relativa de la reducción del tiempo y energía invertidos(TABLA 5).

TIPO DE REMOJO	T R (horas)	t 50 (minutos)	%
AD	36	373	100
	24	242.5	65.01
	12	106.5	28.55
	6	130	34.85
	3.5	150	40.21
AA	36	211	56.56
	24	164	43.96
	12	105	28.15
	6	140	37.53
	3.5	147	39.41
SS	36	26	6.97
	24	28	7.50
	12	38	10.18
	6	52	13.94
	3.5	81	21.71

TABLA 5. Comparación entre los t 50 vs los tR, mostrando los porcentajes de tiempo ahorrados. NOTA: En color azul se muestran los tiempos óptimos de cocción y en color rojo los mayores tiempos de cocción.

Por otro lado, al comparar (TABLA 6) el mejor t 50 de SS contra los mejores t 50 de AD y AA se observa, que hay diferencias considerables en cuanto al tiempo y por tanto en el gasto energético (gas o luz).



Tales diferencias resultan de observar que el mejor t 50 para AD y AA es a las 12.0 horas y compararlo con otros t 50 en las dos columnas de la derecha, lo cual hace evidente la necesidad de realizar un tR óptimo; ya que, la comparación muestra que los porcentajes de tiempo-ahorro van desde 18 hasta 56% en el caso de AD, mientras que el AA presenta tiempos-ahorro desde 25 hasta 35.9%. Asimismo, en el caso de la SS, los tiempos-ahorro respecto a su mejor t 50 van desde 26.3 hasta 46.1 % ( TABLA 6).

En los tres tipos de remojo es evidente que el ahorro de tiempo se traduce en ahorro de energía y por tanto de costos más bajos.

REMOJO	TR (horas)	T 50 OPTIMO (minutos)	V S	t 50 EXCEDENTE (minutos)	$\Delta$ DE t 50	% ENERGIA EXCEDENTE
AD	12.0	106.5	AD-3.5	150.0	+43.5	28.8
AD	12.0	106.5	AD-6.0	130.0	+23.5	18.0
AD	12.0	106.5	AD-24.0	242.5	+136.0	56.0
AA	12.0	105.0	AA-3.5	147.0	+42.0	28.5
AA	12.0	105.0	AA-6.0	140.0	+35.0	25.0
AA	12.0	105.0	AA-24.0	164.0	+59.0	35.9
SS	24.0	28.0	SS-3.5	81.0	+53.0	65.4
SS	24.0	28.0	SS-6.0	52.0	+24.0	46.1
SS	24.0	28.0	SS-12.0	38.0	+10.0	26.3

TABLA 6. Comparativa entre los mejores t 50 de los tres tipos de remojo. NOTA: En color azul se muestran los mejores tiempos de cocción, mientras que en color rojo se observan los incrementos de tiempo, respecto al t50 óptimo.

Incluso, si se compara el "peor" t 50 de SS (81 min.), contra los mejores t 50<sub>s</sub> de AD (106.5 min.) y AA (105 min.) se observan reducciones considerables (TABLA 7), puesto que un remojo de 3.5 horas en SS resulta más rápido que el t 50 óptimo de AD y AA hasta en 23 %.

REMOJO	tR (horas)	t 50 (minutos)	VS	t 50 (minutos)	Δ DE TIEMPO	% ENERGIA EXCEDENTE
SS	3.5	81.0	AD-12.0	106.5	25.5	23.9
SS	3.5	81.0	AA-12.0	105.0	24.0	22.8

TABLA 7. Contraste del "peor" t 50 de SS, respecto al "mejor" t 50 de AD y AA.

## **VII DISCUSION**

### **REMOJO O IMBIBICION**

Respecto a la imbibición de las semillas de garbanzo utilizadas para este estudio, se consideró que las estructuras involucradas en la adquisición de agua son las aberturas naturales (hilo y micrópilo), ya que por estas estructuras el agua entra más rápidamente; proceso que se observó en la primera media hora, tal como se muestra en la curva de imbibición (Figura 8). También se consideró que, aún cuando no fue objeto de estudio en ésta investigación, la testa interviene en tal proceso.

Considerando lo anterior, los resultados de éste trabajo son **concordantes** con los obtenidos por Sefa-Dedeh and Stanley (1979<sub>1</sub>); quienes propusieron que el proceso de absorción-remoción está **integrado** por la testa, el hilo y el micrópilo.

El hecho de investigar y comprobar la imbibición con agua destilada asegura que de esta forma **sólo** se observa el comportamiento de las estructuras de la semilla involucradas en la imbibición (testa, hilo y micrópilo) y **no** la influencia de otros factores físicos o químicos de la solución de remojo. Además, este método mostró que las semillas de garbanzo **solo necesitan** remojar durante **12.0 horas**, ya que éste es el tiempo suficiente para alcanzar el **100%** de imbibición (Figura 8).

Por lo tanto no tiene caso remojarlas por mas tiempo, como lo señalan Sefa-Dedeh y Stanley (1979<sub>1</sub> y 1979<sub>2</sub>); Mayer and Poljakof-Mayber(1985); Hung *et al* (1993) y Klamczynska *et al* (2001).

### **INTERPRETACION DE LOS PROCESOS t 50 y t R**

En la literatura consultada todos los investigadores están de acuerdo que el remojo previo a la cocción reblandece las semillas (Berrios, *et al* 1999), pero ninguno menciona que

el remojo también puede provocar el **endurecimiento**, fenómeno que se obtuvo en los resultados de **ésta** investigación, pues tanto en AD (testigo) como en AA (experimental), la curva de  $t_{50}$  vs  $t_R$  mostró que después de las 12.0 horas de remojo, los  $t_{50}$  **augmentan** en vez de disminuir tal como ocurrió antes de éste tiempo. Este **hallazgo** también se refleja en las figuras 8 y 9.

Respecto a lo obtenido con la Solución Salina (experimental), aquí se observó disminución de  $t_{50}$  **desde** las 3.5 horas; con una **tendencia** a seguir bajando hasta las 36.0 horas, aunque esta última fase ya no fue tan marcada. Tales resultados son similares con los obtenidos por Clemente *et al* (1998<sub>2</sub>) y confirman lo que ya habían propuesto Varriano-Marston and De Omana (1979), con relación a las sustancias pécticas solubles.

Analizando los datos obtenidos con la **SS**, resulta que la disminución del  $t_{50}$  en el primer  $t_R$  (3.5 horas) es casi la **mitad** (54%), respecto a AD y AA al mismo  $t_R$ . Lo anterior, tanto en el ámbito doméstico como a nivel industrial es muy provechoso, ya que **no** se invertiría tanto tiempo en el remojo y se obtendría el beneficio de reducir el  $t_{50}$  prácticamente a la mitad; dando como consecuencia una **reducción** del energético empleado también a la mitad.

**Idealmente**, lo mejor sería reducir el  $t_{50}$  a un 6.97% de total, lo cual representa una disminución de casi el 93% del tiempo y energía empleados, considerando que se hiciese el remojo a 36.0 horas en SS; sin embargo, esto implica demasiado tiempo si se considera la cantidad de tiempo y espacio invertidos.

Ahora bien, el **descenso** del  $t_{50}$  en AD-12.0 horas (106.5 min.) y en AA-12.0 horas (105.0 min.) presentó un comportamiento similar, pero fue más evidente en **SS-24.0** horas (28.0 min.) y se vincula con la degradación y/o reblandecimiento de las paredes celulares. Sin embargo, Rockland *et al.* (1974 y 1977), Sefa-Dedeh (1979<sub>2</sub>) y Marconi *et al.*

(2000) reportan tales procesos con la aplicación de calor; hecho contrastante con los resultados de **este** trabajo, pues aquí se logran tales cambios de degradación y/o reblandecimiento **sólo** con el remojo; éste aspecto se relaciona con la solubilización de sustancias pécticas reportada por Varriano-Marston y De Omana en 1979.

Después de las 12.0 horas de remojo, en AD-24.0, AA-24.0, AD-36.0 y AA-36.0; el t 50 **augmentó**, esto coincide con la presencia de zonas fotodensas (aparentemente lignificadas) en las esquinas y con la "**recuperación**" de la **forma** de los cuerpos proteicos. Hasta el momento, éstos resultados **no** han sido reportados en la literatura consultada, pues recomiendan y se señala que el remojo es solo para **reblandecer** como un proceso previo a la cocción; pero no establecen que el **exceso** de remojo puede endurecer la semilla y por tanto **eleva** el t 50.

En éste mismo sentido, es interesante considerar lo que reporta la literatura con relación a la lignina, pues ahí se plantea que los polifenoles ( por acción de la peroxidasa) se convierten e radicales libres, los cuales forman largas cadenas de lignina de modo que interactúan covalentemente con los polisacáridos y proteínas presentes en las paredes celulares y la lámina media, lo cual implica lignificación (Blouin *et al*, 1982 y Diaz de León, 1989). De hecho existen reportes que, de manera previa, que sugieren la participación de la lignina como un posible mecanismo de endurecimiento en la cocción de las leguminosas (Muller, 1967 y Molina *et al*, 1976).

## **VIII CONCLUSIONES**

### t 50 vs tR

El problema de la imbibición es integral, pero también multifactorial.

El tiempo óptimo de cocción para AD y AA corresponde al remojo de 12 horas.

Al aumentar el tiempo de remojo en AD y AA, se incrementa el t 50.

El mejor t 50 para SS se obtiene desde las 24.0 hasta las 36.0 horas de remojo.

Comparada con AD y SS, la Solución Salina resulta mejor en cuanto a la reducción de los t 50, incluso desde el primer tiempo de remojo (3.5 horas).

Desde el punto de vista económico, debe valorarse qué es más conveniente: remojar 12 horas en Agua Destilada o en Agua Alotropizada, o bien remojar 3.5 horas en Solución Salina.

### MICROGRAFIAS

**PARED CELULAR:** A medida que aumenta el tiempo de remojo se aprecia aumento en el grosor, degradación paulatina y separación de láminas medias, provocando espacios intercelulares.

**ESQUINAS:** Aumentan de tamaño y presentan material de naturaleza proteica, diferente en tamaño y constitución, según el tipo y tiempo de remojo.

A las 36.0 horas en AD y AA, se aprecia mayor fotodensidad de las paredes celulares, lo cual implica una posible lignificación y por tanto dureza. Esto comprueba el incremento en el tiempo de cocción a 24.0 y 36.0 horas.

ALMIDONES: Según el tipo y tiempo de remojo presentan coalescencia progresiva y degradación del contenido de los gránulos de almidón.

CUERPOS PROTEICOS: En AD y AA, la degradación y coalescencia es paulatina hasta las 12 horas, recuperándose la forma en AD hasta las 24.0 horas y en AA hasta las 36.0 horas.

En AD y AA de 36.0 horas, los "cuerpos más fotodensos" podrían corresponder a complejos polifenólicos que pueden estar precipitando con las proteínas (se confirma con la prueba de permanganato) lo cual implica dureza.

En general la Solución Salina tiende a desestabilizar la microestructura de los CP y de la PC desde las 3.5 horas de remojo; en cuanto al agua Alotropizada, tiende a cambiar la estructura conformacional de los Cuerpos Proteicos desde las 3.5 horas hasta las 24.0 horas.

## IX BIBLIOGRAFÍA

### CITADA Y CONSULTADA

1. Anderson, R., Rackis, J. and Tallent, W. 1979. Biologically active substances in soy products. In: *Soy Protein and Human Nutrition*. Wilcke, H., Hopkins, D. and Waggle, D. Eds. Academic Press, New York.
2. Apam-Martínez, J., López-Sandoval, E., Zendejas-Leal, B. *et al.* 1998<sub>1</sub>. CELDAS ALOTROPICAS Información técnica, control y mantenimiento I Parte. CELDAS ALOTROPICAS, S.A. Mex.
3. Apam-Martínez, J., López-Sandoval, E., Zendejas-Leal, B. 1998<sub>2</sub>. CELDAS ALOTROPICAS Información técnica, control y mantenimiento II Parte. CELDAS ALOTROPICAS, S.A. Mex.
4. Apam-Martínez, J., López-Sandoval, E., Zendejas-Leal, B. *et al.* 2000. Physical effects of the allotropic cell on the aqueous solutions. En: *Memorias del 20<sup>avo</sup> Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencia de Superficies y Vacío A. C.* Agosto; Oax., México.
5. Aquino Bolaños, N. E. y Mercado Silva, E. La jícama en boca de todos PNCTA 2003. En: MUY INTERESANTE : AÑO XX No. 5; p.41.
6. Arber, A. 1953. The mind and the eye. En: *El biólogo ante la escritura*. PRENCI. CUCC-UNAM. Septiembre. 1987.
7. ASERCA (Apoyos y Servicios a la Comercialización Agropecuaria). 1997. El garbanzo mexicano. *Claridades Agropecuarias*. No. 42. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural. México.
8. ASERCA. (Apoyos y Servicios a la Comunidad Agropecuaria) 2002.
9. Attia, R., El-Tabey, S., Aman, M. and Hamza, M. 1994. Effect of cooking and decortication on the physical properties, the chemical composition and the nutritive value of the chickpea. (Cicer arietinum L.) *Food Chemistry*. 50: 125-131.
10. Berrios, J., Swanson, B. and Cheong, W. 1999. Physico-chemical characterization of stored black bean (Phaseolus vulgaris L.) *Food Research International*. 32, 669-676.
11. Blouin, F., Zarins, Z. and Cherry, J. 1982. Discoloration of proteins by binding with phenolic compounds. En: *Food Protein Deterioration*. American Chemical Society. Washington. p. 67-91.



12. Bressani, R. and Elias, L. 1974. Nutritional value of legume crops for humans and animals. En: *Advances in Legume Science*. Royal Botanic Gardens. London. P. 135-155.
13. Chavan, J., Kadam, S. and Salunke, D. 1986. Biochemistry and technology of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds. *Food Science and Nutrition (CRC Critical reviews)*. Vol. 25, 2; p. 107-158.
14. Clemente, A.; Sanchez-Vioque, R. *et al.* 1998. Effect of cooking on protein quality of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds. *Food Chemistry*. Vol. 62, No. 1, p. 1-6.
15. Clemente, A., Sanchez-Vioque, R. *et al.* 1998. Effect of processing on water absorption and softening kinetics in chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds. *Journal of Scientific Food Agriculture*. 78: 168-174.
16. Daniel, V., Leela, R., Urs, T. *et al.* 1965. The supplementary value of the proteins of soybean as compared with those of Bengal gram, red gram and skim milk powder to poor Indian diet based on rice and wheat. *Journal Nutrition Diet.*, 2, 128.
17. Daniel, V., Desai, B., Venkatarao, S. *et al.* 1968. The supplementary value of Bengal gram, red gram and soybean as compared with skim milk powder to poor Indian diets based on ragi, kaffir corn and pearl millet. *Indian Journal Nutrition Diet.*, 5, 283.
18. De Miguel, G. 1991. El garbanzo. Una alternativa para el secoano. Ed. MUNDI PRENSA. 134 p.
19. Duke, J.A. 1981. Handbook of Legumes of world economic importance. Plenum Press, New York. P. 52-57.
20. Duke, J.A. 1981. Handbook of legumes of world economic importance. Plenum Press, New York.
21. Elbert, E. and Witt, R. 1968. Gelatinization of starch in the common dry bean, *Phaseolus vulgaris*. *Journal of Home Economics*. 60 (3): 186
22. Emami, S. and Tabil, L. 2002. Processing of starch-rich and protein-rich fractions from chickpeas - a review. ASAE-CSAE North-Central Intersectional Meeting. September. Saskatchewan, Canada.
23. Esh, G., De, T. and Basu, U. 1960. Nutritive value of the proteins of Bengal gram of high and low protein content. *Br. Journal Nutrition*. 14, 425.

24. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 1976. Production Yearbook. Rome, Italy.
25. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 1979. Expert consultation on grain legume processing; Central Food Technological Research Institute. Grain legumes: processing and storage problems. *Food and Nutrition Bulletin*. 1, 1-7.
26. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 1982. Food and nutrition paper. Legumes in human nutrition. Vol. 20: 30.
27. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 1994. Production Yearbook. Rome, Italy.
28. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2001. Production Yearbook. Rome, Italy.
29. Geervani, P.1991. Utilization of chickpea in India and scope for novel and alternative uses. P. 47-54. In: Uses of tropical grain legumes: Proceedings of Consultants Meeting, 27-30 March, 1989 ICRISAT Center, Patancheru, Andhra Pradesh, India.
30. Gonzalez Merino, L. 1998. Celdas Alotropicas; 58 años de lucha.... SECOGRAFIC. México.
31. Gonzalez, R., Márquez, J. y Esquivel, C. 1997. Influencia de la solución salina de Rockland y Metzler modificada, en la microestructura de testa y cotiledón del frijol negro (*Phaseolus vulgaris* L.). XXI Congreso nacional de Histología. Sociedad Mexicana de Histología, A. C. 15-17 Octubre. Programa y Resúmenes.
32. Hamad, N. and Powers, J. 1965. Imbibition and pectic content of canned dry-line beans. *Food Technology*. 19:216.
33. Hsu, K.; Kun, C. and Wilson, L. 1983. Factors affecting water uptake of soybeans during soaking. *Cereal Chemistry*. 60, 208-211.
34. Huisman, J. and Van der Poel, A.F.B. 1994. Aspects of the nutritional quality and use of cool season food legumes in animal feed. P.53-76. In: Expanding the Production and Use of Cool Season Food Legumes. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands.
35. Hulse, J. H. 1991. Nature, composition and utilization of grain legumes. Proceedings of a Consultants Meeting 27-30 March 1989. ICRISAT , Center, ICRISAT, Patancheru. A P 502 324, India.

36. Hung, T., Liu, L., Black, and Trehwella, M. 1993. Water absorption in chickpea (*C. arietinum*) and field pea (*P. sativum*) cultivars using the Peleg model. *Journal of Food Science*. Vol. 58; No. 4.
37. Jackson, G. and Varriano-Marston, E. 1981. Hard-to-cook phenomenon in beans: Effects of accelerated storage on water absorption and cooking time. *Journal of Food Science*. Vol. 46, 799-803.
38. Janoria, M.; Gour, V. and Singh, K. 1984. Prospectives in Grain Legumes. J.N. Krishi Vishwavidyalaya, Jabalpur, M.P. India.
39. Johansen, D. A. 1940. Plant microtechnique. 3. McGraw Hill Book Co. Inc. New York.
40. Khokhar, S. and Chanhan, B. 1986. Antinutritional factors in moth bean (*Vigna aconitifolia*): varietal differences and effects of methods of domestic processing and cooking. *Journal of Food Science*. 51 (3), 591-594.
41. Klamczynska, B.; Czuchajowska, Z.; and Baik, B.-K. 2001. Composition, soaking, cooking properties and thermal characteristics of starch of chickpeas, wrinkled peas and smooth peas. *International Journal of Food Science and Technology*. 36, 563-572.
42. Kosson, R.; Czuchajowska, Z.; and Pomeranz, Y. 1994. Smooth and Wrinkled peas. General, physical and chemical characteristics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 42, 91-95.
43. Ladizinsky, G. 1975. A new *Cicer* from Turkey. Notes of the Royal Botanic Garden Edimburgh 34: 201-202.
44. Ladizinsky, G.; Pickersgill, B. and Yamamoto, K. 1988. Exploitation of wild relatives of the food legumes. P. 967-978. In: World Crops: Cool Season Food Legumes. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. The Netherlands.
45. Lopez-Curto, M., Marquez, J. y Murguía, G. 1998. Técnicas para el estudio del desarrollo en angiospermas (Libro de laboratorio). Las Prensas de Ciencias, UNAM. pp. 95-98.
46. Malhotra, R., Pundir, R. and Slinkard, A. 1987. Genetic resources of chickpea. P. 67-81. In: The chickpea. CAB International Cambrian News Ltd, Aberystwyth, UK.
47. Marconi, E., Ruggeri, S., Capelloni, M., Leonardi, D. and Carnovale, E. 2000. Physicochemical, nutritional and microstructural characteristics of chickpeas (*Cicer*

- arietinum L.) and common beans (Phaseolus vulgaris L.) following microwave cooking. Agriculture and Food Chemistry. 48 (12), 5986-5998.
48. Marconi, E.; Ruggeri, S. *et al.* 2000. Physicochemical, nutritional and microstructural characteristics of chickpeas (Cicer arietinum L.) and common beans (Phaseolus vulgaris L.) following microwave cooking. J. Agriculture and Food Chemistry. 48 (12), 5986-5994.
49. Mattson, S. 1946. The cookability of yellow peas. Acta. Agric.Scand. 1: 185.
50. Mayer, A. and Poljakof-Mayber, A. 1975. "The germination of the seeds." 2<sup>nd</sup>. Ed. Peergamon Press. Oxford.
51. Molina, M., Bater, M., Gomez-Brenes, R., King, K., and Bressani, R. 1976. Heat treatment. A process to control the development of the hard-to-cook phenomenon in black beans (Phaseolus vulgaris). Journal Food Science. 41, 661-666.
52. Morris, H. and Wood, E. 1956. Influence of moisture content on keeping quality of dry beans. Food Technology. 10 (5), 225.
53. Muehlbauer, F., Redden, R., Nassib, A. Robertson, L. and Smithson, J. 1988. Population improvement in pulse crops: an assessment of methods and techniques. P. 943-966. In: World Crops: Cool Season Food Legumes. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
54. Muehlbauer, F. and Singh, K. 1987. Genetics of chickpea. P. 99-125. In: The chickpea. CAB. International, Wallingford, Oxon, OX10 8DE, UK.
55. Muehlbauer, F. and Tullu, A. 1997. Cicer arietinum L. NewCROP FactSHEET.
56. Muehlbauer, F., Short, R., Kaiser, D. *et al. et al.* 1982. Description and culture of chickpeas. Coop. Ext., College of Agr. Washington Univ. State, Pullman.
57. Muller, F. 1967. Cooking quality of pulses. Journal Science Food Agriculture. 13, 292.
58. Muñoz, A., Passian, A., Martinez, E., Lopez-Sandoval, C., *et al.* (EN PRENSA) Induced changes on the dielectric function of "allotropized" water detected by absorption spectra of gold islands at the surface plasmon resonance. Journal of Sensors and Actuators.
59. Niknejad, M. and Khosh-Khui, M. 1972. Natural cross-pollination in gram (Cicer arietinum L.) Indian Journal of Agriculture Science. 42: 273-274.
60. OREGONSTATE. Gelatinization Changes in Starch.  
<http://food.oregonstate.edu/starch/gelatinization.htm>

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

61. Otto, T.; Baik, B.-K.; and Czuchajowska, Z. 1997. Microstructure of seeds, flours and starches of legumes. *Cereal Chemistry*. 74, 445-451.
62. Powers, J. 1961. Gelation of canned peas and pinto beans as in influence by procesing condition, starch and pectic content. *Food Technology*. 15: 41.
63. Reddy, N., Salunkhe, D. and Sharma, R. 1980. Flatulence in rats following ingestion of cooked and germinated black gram and a fermented product of black gram and rice blends. *Journal of Food Science*. 45, 1161.
64. Reyes, C., Okamura, J., Armienta, E., Gomez, R., and Milan, J. Hard-to-cook phenomenon in chickpeas (*Cicer arietinum* L.): Effect of accelerated storage on quality. *Plant Foods for Human Nutrition*. 55: 229-241.
65. Rockland, L., Zaragoza, E. and Oracca-Tetteh, R. 1979. Quick-cooking winged beans (*Psophocarpus tetragonolobus*). *Journal of Food Science*. Vol. 44; 1004-1007.
66. Rockland, L. 1972. Quick-cooking soy beans products. U. S. Patent No. 3,635,728.
67. Rockland, L. and Metzler, E. 1967. Quick cooking lima and other dry beans. *Food Technology*. 21: 26A.
68. Rockland, L. B. 1974. Scanning electron microscope studies on dry beans (Effects of cooking on the cellular structure of cotyledons in rehydrated large lima beans). *Journal of Food Science*. Vol. 39; p. 342-346.
69. Rockland, L., Hahn, D. and Zaragoza, E. 1977. Quick-cooking frozen beans. *Food Product Development*. 11(3): 34.
70. Rockland, L., Hayes, R., Metzler, E. and Binder, L. 1967. Process for producing quick-cooking legumes. U. S. Patent No. 3,318,708. May 9.
71. Rockland, L., Jones, F. and Hahn, D. 1977. Liqth and scanning electron microscopoe studies on dry beans: Extracellular gelatinization of lima bean starch in water and a mixed salt solution. *Journal of Food Science*. 42 (5):1204-1207.
72. Rockland, L., Zaragoza, E. and Hahn, D. 1975. Process for preparing quick-cooking garbanzo and red kidney beans. U. S. Patent No. 3,869,556. March 4.
73. Rodríguez Mireles, A. Evaluacion del uso del hidroxido de sodio (NaOH) e hidroxido de calcio(Ca(OH)<sub>2</sub>) con diferente grado de pureza química, para la obtencion de concentrados proteicos de garbanzo (*Cicer arietinum* L.). TESIS PROFESIONAL. 1998. Chapingo, Mexico.

74. Ruzin, S.E. 1999. Plant microtechnique and microscopy. Oxford University Press. New York. p. 68.
75. Saini, H. and Knight, E. 1984. Chemical constitution of starch and oligosaccharide components of "desi" and "kabuli" chickpea (*Cicer arietinum* L.) seed types. *Journal Agriculture and Food Chemistry*. 32, 940-944.
76. SARH-INIA. 1982. Ciclos de Cultivo. INIA. Mex.
77. Sayar, S. and Turhan, M. 2002. Modeling of water absorption in chickpea. Depth of Food Engineering, University of Mersin, Turkey. [www.confex.com/ift/98annual/accepted/326a.htm-k](http://www.confex.com/ift/98annual/accepted/326a.htm-k)
78. Sayar, S.; Turhan, M. and Gunasekaran, S. 2001. Analysis of chickpea soaking by simultaneous water transfer and water-starch reaction. *Journal of Food Engineering*. 50, 91-98.
79. Sefa-Dedeh, S. and Stanley, D. 1979. (1) The relation of microstructure of cowpeas to water absorption. *Cereal Foods World*. 21: 168.
80. Sefa-Dedeh, S. and Stanley, D. 1979.(2) Textural implications of the microstructure of legumes. *Food Technology*. OCTOBER.
81. Sefa-Dedeh, S. and Stanley, D. 1979. (3) Microstructure of cowpea variety adua ayera. *Cereal Chemistry*. Vol. 56; No. 4.
82. Serrano Arellano, J. La ultraestructura del cotiledón de *Cicer arietinum* (garbanzo), despues del remojo en agua alotropizada y solución salina". TESIS de Licenciatura Facultad de Ciencias, UNAM. 2003.
83. Siddapa, G. 1959. Canning of dried Bengal gram, (*Cicer arietinum*). *Indian Journal and Horticulture*. 16, 170.
84. Singh, K. B. 1987. Chickpea breeding. P127-162. In: The chickpea. CAB International, UK.
85. Singh, K. B. 1997. Chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Fields Crops Research*. 53, 161-170.
86. Singh, U. and Jambunathan, R. 1982. Changes in starch, oligosaccharides and soluble sugars in developing pod wall and seed of chickpea. *Phytochemistry*. 21: 297.
87. Singh, U. B.; Erskine, W. et al. 1988. Influence of pretreatment on cooking quality parameters of dry food legumes. *Journal of Food Science and Agriculture*. 44, 135-142.

88. Smithson, J., Thompson, J. and Summerfield, R. 1985. Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Chapter 8. In: Grain legume crops. Collins London.
89. Snyder, E. 1936. Some factors affecting the cooking quality of the pea seeds and Great Northern types of dry beans. *Nebraska Agriculture Experimental Stn. Bulletin.* No. 85.
90. Stanley, D. and Aguilera, J. 1985. A review of textural defects in cooked reconstituted legumes - the influence of structure and composition. *Journal of Food Biochemistry.* Vol. 9, 277-323.
91. Taiwo, K.; Akanbi, C. and Ajibola, O. 1997. The effects of soaking and cooking time on the cooking properties of two cowpea varieties. *Journal of the Food Engineering* 33; 337-346.
92. Takayama, K.; Muneta, P. and Wiese, A. 1965. Lipid composition of dry beans and its correlation with cooking time. *Journal of Agriculture and Food Chemistry.* 13 (3) , 269.
93. Tayyar, R. and Waines, J. 1995. Genetic relationships among annual species of *Cicer* (*Fabaceae*) using isozyme variation. *Theoretical Applied Genetics.* 92, 245-254.
94. Tovar, M. Determinación de los cambios estructurales relacionados con el fenómeno de reversibilidad del endurecimiento en dos cultivares de frijol (*Phaseolus vulgaris*). TESIS de Doctorado. Facultad de Ciencias, UNAM. 1997.
95. Turhan and Gunasekaran, 2001. Kinetics of in situ and in vitro gelatinization of hard and soft wheat starches during cooking in water. *Journal Food Engineering.* 52 (1): 1-7.
96. Van der Maesen, L. J. 1972. A monograph of the genus with special reference to the chickpea (*Cicer arietinum* L.), its ecology and cultivation. Commun. Agric. University, Wageningen, Dordrecht, The Netherlands.
97. Van der Maesen, L. J. 1975. Germplasm collection and evaluation in *Cicer* and *Cajanus*. In: Proc. Int. Workshop on Grain Legumes ICRISAT, India. p. 229.
98. Van der Maesen, L. J. 1987. *Cicer* L. Origin, history and taxonomy of chickpea p. 11-34. In: The Chickpea. C.A. b. International Cambrian News Ltd, Aberystwyth, UK.

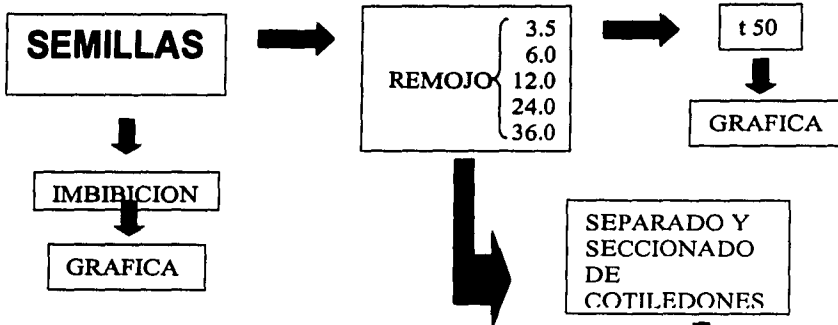
99. Varriano-Marston, E. and De Omana, E. 1979. Effects of sodium salt solutions on the chemical composition and morphology of black beans (*Phaseolus vulgaris*) *Journal of Food Science*. Vol. 44, No. 2, 532-537.
100. Varriano-Marston, E. and Jackson, G. 1981. Hard-to-cook phenomenon in beans: Structural changes during storage and imbibition. *Journal of Food Science*. Vol. 46, 1379-1385.



# ANEXOS

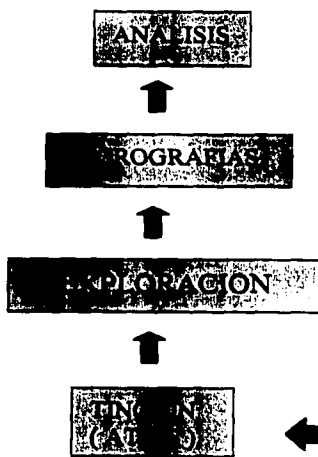
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

# ANEXO A

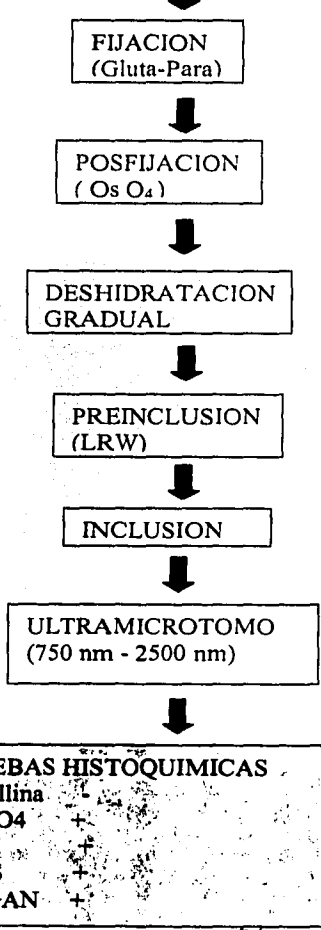


## DIAGRAMA GENERAL

### DESEMPEÑO



TESIS CON FALLA DE ORIGEN



PRUEBAS HISTOQUIMICAS	
Vainillina	
KMnO4	+
Lugol	+
AT+S	+
APS+AN	+

## ANEXO B

### CELIDAS ALOTROPICAS

#### CARACTERISTICAS

La alotropía (diferentes formas estructurales de un mismo elemento) es un fenómeno que se presenta naturalmente en algunos elementos como el Oxígeno, el Fósforo y el Carbono.

El termino proviene de las raices griegas "allos" = cambio y "tropos" = forma; por lo tanto, las diversas formas que adopte un elemento son alótropas o formas alotrópicas.

El uso de las celdas no es reciente, ya se sabía de su aplicación desde las primeras maquinas de vapor, en las cuales se usaban en forma de esferas en el fondo de las calderas (lo cual limitaba su efectividad), para evitar al máximo las incrustaciones o sarros en las paredes.

Los problemas de limpieza de las mismas y sus contenedores -aunado al avance de la química moderna- contribuyeron a que las esferas fueran desplazadas y sustituidas por los Intercambiadores iónicos que ayudan que ayudan a controlar tal problemática; sin embargo "... los sistemas de generación de vapor y enfriamiento tienen un limite en él número de concentraciones donde pueden trabajar sin riesgo. Se conoce como número de concentraciones de un sistema de generación de vapor y/o de enfriamiento al número de veces que un volumen de agua puede concentrar las sales que contiene, sin que ésta ofrezca un peligro para el propio sistema, en donde las sales comiencen a precipitar y formar incrustaciones." ( Celdas Alotrópicas, 1998<sub>2</sub>.)

El dispositivo en cuestión consiste en un cilindro de latón, sellado herméticamente con soldadura de plata por ambos extremos, conteniendo una mezcla de polvo de magnetita y aserrín; embebida en una solución de ácido ascórbico (Muñoz *et al.* En Prensa), la cual genera un campo eléctrico menor a 1 volt. Además, tiene en su interior dos sellos adicionales para soportar un ambiente de alto vacío.

Como dato referencial, el señor Raúl Patiño Cervantes posee la patente del dispositivo ( US5522992: Solution Treatment Device).

En cuanto a su potencial de alotropización las presentaciones son tres:

- a) La Celda Industrial que tiene 90.0 cm de largo por 1.25 cm de diámetro, con una capacidad de trabajo para 1000 lt de agua en 8:00 horas o al paso. Recubierta por un baño de latón.
- b) La Celda Familiar de 12.0 cm de largo por 1.25 cm de diámetro, cuya capacidad es de 20 lt de agua en 8:00 horas. Recubierta por un baño de plata.
- c) La Celda Personal es de 9.0 cm de largo por 1.3 cm de diámetro y su capacidad es de 0.25 lt en 4 minutos. Recubierta por baño de oro o de plata.

Desde el punto de vista físico la celda trabaja como la mitad de una celda cuando se encuentra en una solución acuosa que contiene sólidos disueltos, en estas circunstancias la solución acuosa actúa como la otra mitad de la celda.

En una solución conductora como la descrita, la celda alotrópica proporciona una *fem* (fuerza electromotriz) positiva con la solución; es decir, un potencial que puede ser medido.

Así, el efecto total de esta *fem* puede polarizar los sólidos que tiene disueltos el agua y producir un sistema lento de energía libre; por lo tanto, los cambios de energía libre pueden causar un decrecimiento en la tensión interfacial entre los sólidos.

## COMO USARLAS

Su uso es relativamente sencillo pues solo basta sumergir la celda en el medio que se desee alotropizar, por un lapso de tiempo que depende de la cantidad del medio y del tamaño de la celda. Cuando se trata de medios sólidos, solo se pone en contacto con el material.

## ANEXO C

### PRODUCCIÓN MUNDIAL DE GARBANZO 2001

PAIS	MILLONES DE TONELADAS
INDIA	3 870 000
TURQUIA	540 000
PAKISTAN	387 000
MÉXICO	200 000
IRAN	158 000
ETIOPIA	135 000
ESPAÑA	50 300
EGIPTO	15 315
NEPAL	12 148
ITALIA	4 703
PERU	4 500
CHILE	3 689
PORTUGAL	1 500
ARGENTINA	1 200

Fuente: F.A.O. (2001)

## ANEXO D

### PROPUESTA PARA ESTUDIOS FUTUROS

El garbanzo -desde la perspectiva como fue analizado en éste trabajo- está lejos de parecer acabado puesto que, el solo hecho de correlacionar la microestructura con los tiempos de cocción y los tiempos de remojo; da lugar a un sinnúmero de temas cuyo fin está lejos de visualizarse, entre los cuales se pueden desprender los siguientes:

- a) Análisis químico de los líquidos de remojo en AD, AA y SS en sus diferentes tiempos de remojo;
- b) Comparación (respecto a la literatura) en los tipos de azúcares presentes en AD, AA y SS, en sus diferentes tiempos de remojo;
- c) ¿Cuáles son los cambios químicos de las proteínas en AD, AA y SS en sus diferentes tiempos de remojo?;
- d) En AD y AA de 36.0 horas de remojo: Confirmar si los cuerpos fotodensos que se aprecian en la imagen (Figura C.1), son complejos polifenólicos que precipitan con las proteínas de la matriz proteica;



Figura C.1 Remojo de 36.0 horas con tinción metacromática de AT+S.

- e) Respecto a las zonas más fotodensas en los vértices de las esquinas y su posible relación con el aumento de  $t$  50 en AD y AA de 36.0 horas, es pertinente comentar que resultaría aventurado afirmar la presencia de lignina y/o suberina puesto que no se realizaron pruebas específicas (Floroglucinol y Sudán respectivamente) para estos compuestos. En todo caso y dada su ubicación, es posible que se trate de acumulaciones y/o zonas de convergencia de pectina (lámina media); a reserva de realizar la prueba histoquímica correspondiente;

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

- f) En general las proteínas de las leguminosas son de dos tipos: a) " las de tipo estructural presentes en membranas, paredes o como enzimas; predominan las albúminas y las glutelinas de bajo peso molecular; b) las de reserva, son principalmente globulinas y presentan un elevado peso molecular" (FAO, 1982) Por lo tanto, es posible que las de tipo estructural sean las que se desplacen hacia las esquinas y los espacios intercelulares; así, su identificación requeriría tinciones o pruebas citoquímicas muy específicas;
- g) La literatura reporta formación de amilopectina como efecto de la cocción (Klamczynska *et al*, 2001) ¿Influye en el incremento del t 50? ¿Implica necesariamente dureza?;
- h) Otra reacción interesante que se reporta es la formación de un complejo de pectina-suberina como una respuesta al daño celular (Aquino y Mercado, 2003) ¿Si el remojo en exceso (24.0 y 36.0 horas) se interpreta como un estímulo para la reparación (cicatrización) celular; entonces influye en el incremento del t50 y por tanto en la dureza?;
- i) Se considera que después de la imbibición inicial da inicio la germinación ya que es cuando la semilla desarrolla los sistemas metabólicos necesarios para crecer y las enzimas de los mismos, así como la síntesis de proteínas ( ): ¿El tR en AD-36.0 horas y por tanto su imagen, son una evidencia de lo anterior?;
- j) En torno a la solución salina y su efecto en la imbibición y la disminución del t 50 como un efecto de los agentes activos (Rockland, Zaragoza and Oracca-Tetteh, 1979); sería interesante comprobar si efectivamente los iones divalentes Calcio y Magnesio son sustituidos por los iones monovalentes del Sodio presentes en las sales de la solución de remojo;

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



- k) La gráfica de t50 implica la necesidad de plantear las ecuaciones respectivas para el comportamiento de las curvas de AD, AA y SS;
- l) El análisis económico-comparativo implica la necesidad de realizar una evaluación de costos ( \$ ) según el tipo de energético empleado, para calcular cuanto se ahorra en energía y por tanto en egresos;
- m) Desde el punto de vista industrial y/o doméstico se debe valorar la opción más económica, sin sacrificar energéticos;
- n) En relación a los gránulos de almidón: En general se reportan cambios (gelatinización y/o coalescencia) en ellos como efecto de la aplicación de calor a distintas temperaturas y tiempos. (OREGONSTATE, 2003., Otto, Baik and Czuchajowska, 1997, Rockland, 74, 75, 77 y 79., Sefa-Dedeh and Stanley, 1979 , y 2 ., Por lo tanto, es sugerente el hecho de realizar una investigación comparativa de los cambios específicos que suceden con la aplicación de calor; respecto a los encontrados en éste trabajo, ya que aquí se obtiene la coalescencia sin aplicación de calor. Lo anterior conlleva de nuevo al aspecto de evaluar desde el punto de vista de los puntos (k) y (l), cual es la opción más rentable para el reblandecimiento de los almidones, tanto en la industria como en el ámbito doméstico.
- o) Un estudio que podría parecer polémico es el que considerara la relación existente entre el tipo de aura del cultivar (figura C.2) y el análisis bromatológico correspondiente, ya que; si en los humanos el estado psicofisiológico se refleja en éste tipo de imágenes, es posible que exista alguna relación del estado fisiológico de la semilla con su imagen correspondiente. La gran cantidad de almidón que contiene la semilla de garbanzo representa una gran fuente

energética, la cual emana y se manifiesta alrededor de la semilla y ha sido captada con la fotografía "Kirlian".



Figura C.2 . Fotografía "Kirlian" de una semilla de garbanzo mostrando el aura correspondiente.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN