



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

Cambios microestructurales en células de
cotiledón y tiempos de cocción del garbanzo
(*Cicer arietinum* L.) con remojo en solución
salina y cocción en horno de microondas

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

PRESENTA

MARÍA FÉLIX GARCÍA FERNÁNDEZ

TUTORA: CLARA ESQUIVEL
HUESCA



Ciudad Universitaria, Cd. de México
2016



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

1. Datos del alumno.

García

Fernández

María Félix

75944251 cel. 5527706543

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Ciencias

Biología

075559629

2. Datos del Tutor

Dra.

Clara

Esquivel

Huesca

3. Datos del sinodal 1

Dra. Margarita

Collazo Ortega

4. Datos del sinodal 2

Dra.

Patricia

Rivas

Manzano

5. Datos del sinodal 3

Dra.

Helia Reyna

Osuna

Fernández

6. Datos del sinodal 4

M en C

Silvia

Juárez

Chavero

7. Datos del trabajo escrito

Cambios microestructurales en células

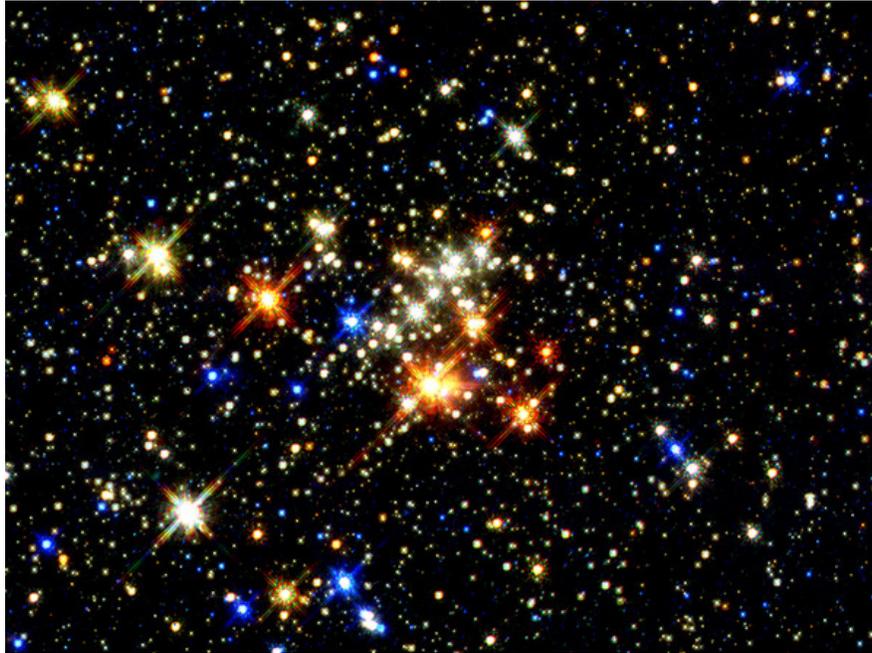
de cotiledón y tiempos de

cocción del garbanzo (*Cicer arietinum* L.)

con remojo en solución salina y cocción en horno de microondas. 2016

75 pags.

Albert Einstein escribió alguna vez: “Cualquiera seriamente comprometido en el conocimiento científico, llegará a convencerse de que de que hay un Espíritu manifiesto en las leyes del universo, un Espíritu, ante el cual debemos sentirnos humildes”



Dedico este humilde trabajo con todo mi amor y respeto:

Al gran maestro

Al más sabio

Al mejor compañero

Al mejor hermano Al mejor amigo

AGRADECIMIENTOS

- *A la Doctora Clara Esquivel con quien estaré agradecida eternamente por asumir responsablemente la codirección de esta tesis, por su apoyo académico, su calidad humana, su paciencia y apoyo incondicional.*
- *A la Doctora Judith Márquez Guzmán por haberme facilitado las condiciones en el laboratorio a su digno cargo para el desarrollo de esta investigación, por su calidez y su alegría.*
- *A la M en C Silvia Juárez Chavero por sus sabios consejos y colaboración en este trabajo*
- *A la Doctora Margarita Collazo por su asesoría y apoyo incondicional*
- *Al Doctor Gerardo Rivas por la solidaridad, asesoría y el apoyo brindado para realizar las pruebas estadísticas de este trabajo*
- *A la Doctora Araceli Noguez Ortiz, responsable del área de consulta especializada de la DGB, por su colaboración incondicional al facilitarme los medios de consulta apropiados para esta investigación.*
- *A la Lic. Elizabeth Gómez Carrillo Responsable del Área de Documentación, del departamento de Información y Servicios Documentales de La Subdirección de Servicios de Información especializada de la DGB, por poner a mi entera disposición los recursos bibliográficos necesarios para llevar a término este trabajo.*
- *A todos los Maestros e investigadores del laboratorio de desarrollo en plantas, por su amistad y apoyo académico durante la realización de este trabajo.*



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

Cambios microestructurales en células de
cotiledón y tiempos de cocción del garbanzo
(*Cicer arietinum* L.) con remojo en solución
salina y cocción en horno de microondas

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

PRESENTA

MARÍA FÉLIX GARCÍA FERNÁNDEZ

TUTORA: CLARA ESQUIVEL
HUESCA



Ciudad Universitaria, Cd. de México
2016

INDICE

	RESUMEN	PAGINA
		1
I	INTRODUCCIÓN	2
II	ANTECEDENTES	
	II.1.1 Origen e Historia del garbanzo	5
	II.1.2 Taxonomía	6
	II.1.3 Nutrientes de la semilla	9
	II.1.4 Microestructura	12
	II.1.5 Condiciones de cultivo	17
	II.1.6 Importancia económica y distribución geográfica	17
	II.1.7 Producción Nacional	18
	II.1.8 Uso alimenticio	19
	II.1.9 Otros usos del garbanzo	20
	a) Medicinales	20
	b) En la Industria	21
	II.2.1 Remojo o imbibición del garbanzo previo a la cocción	22
	a) Agua destilada	23
	b) Solución salina modificada(SSM)	23
	c) Agua alotropizada y celdas alotrópicas	24
	II.2.2 Otros factores que influyen en el proceso de remojo o imbibición	25
	II.2.3 Métodos de cocción	26
	a) Método tradicional o de olla abierta	27
	b) Método en olla de presión	28
	c) Método en cocinador Mattson	28
	d) Método en horno de microondas	29
III	OBJETIVOS	
	III.1.1 Objetivo general	30
	III.1.2 Objetivos particulares	30
IV	METODOLOGÍA	
	IV.1.1 Material biológico.	31
	IV.1.2 Remojo o hidratación de las semillas de garbanzo para obtención de las curvas de hidratación	31
	IV.1.3 Semillas de garbanzo sin cocción	32
	IV.1.4 Cocción de las semillas de garbanzo en cocinador Mattson	32

IV.1.5 Cocción de las semillas de garbanzo en horno de microondas	33
IV.1.6 Procesamiento del material para microscopía óptica	35
IV.1.7 Pruebas histoquímicas	38
V RESULTADOS	
V.1.1 Curvas de hidratación	39
V.1.2 Análisis con microscopía óptica de semillas con remojo y sin cocción	40
V.1.3 Tiempos de cocción de las semillas de garbanzo con el cocinador Mattson y el horno de microondas	42
V.1.4 Pruebas histoquímicas	44
V.1.5 fotomicrografías de la microestructura de las células cotiledonarias con remojo o imbibición	45
VI DISCUSIÓN	53
VII CONCLUSIONES	58
VII.1 propuestas para estudios futuros	59
VIII BIBLIOGRAFIA	60

RESUMEN

La humanidad atraviesa por una grave crisis energética y de comida; una alternativa de alimentación para los países en desarrollo son las semillas secas de algunas legumbres, tales como los garbanzos, los cuales contienen los nutrientes apropiados para una alimentación básica, como almidones y proteínas, entre otros compuestos. El principal motivo de su bajo consumo es su prolongado tiempo de cocción, por lo que se hace necesario un remojo de al menos 12 horas, y buscar alternativas de cocción que impliquen además de un ahorro de energía, la conservación de los nutrientes después de cocerlas; unas de éstas alternativas pueden ser las microondas. El objetivo de este estudio fue investigar los cambios microestructurales por microscopia óptica en las células de los cotiledones de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) previo remojo con una solución reblandecedora (solución salina) y cocción en horno de microondas. Además, determinar si existe una potencialización en la reducción del tiempo de cocción utilizando horno de microondas y solución salina modificada. Se remojaron semillas de garbanzo de la variedad (S92) de los Mochis Sinaloa, utilizando agua destilada en el lote testigo y solución salina modificada (SSM) en el lote experimental. En ambos lotes se utilizó para la cocción el cocinador Mattson y el Horno de Microondas. Se determinaron tiempos medios de cocción (T_{50}). Se realizaron estudios en microscopia óptica y pruebas histoquímicas como el lugol para identificar gránulos de almidón, permanganato de potasio para observar polifenoles y ácido periódico- reactivo de Schiff (PAS) con azul negro de naftol en la identificación de Cuerpos Proteicos y Polisacáridos Insolubles, a la vez que se observaron paredes celulares. Finalmente se tomaron

fotomicrográficas de las muestras procesadas. Se observó que con el horno de microondas se reduce considerablemente el tiempo de cocción en ambos tipos de remojo y que la diferencia fue significativa al utilizar SSM o agua destilada. Con el estudio realizado podemos concluir que el mejor método de cocción fue el horno de microondas porque se observó el mejor tiempo de cocción y se observó la presencia de los nutrientes; almidones, proteínas y polisacáridos insolubles, después de la cocción con dicho método.

I. INTRODUCCION

Las legumbres son una fuente primordial de proteínas, muy barata en muchas partes del mundo, el costo es mucho menor que el de la proteína animal. Entre las leguminosas los garbanzos son importantes para el consumo humano y animal por presentar una cantidad considerable de nutrientes básicos como proteínas vitaminas y minerales, sin embargo, presentan el mismo problema que otras leguminosas, un prolongado tiempo de cocción por la dureza de la semilla.

Se ha utilizado el remojo como método tradicional para ablandar las semillas secas y disminuir el tiempo de cocción. Rockland y Metzler (1967), señalan que cuando las semillas se remojan, la hidratación se lleva a cabo por el hilo, el micrópilo y eventualmente a través de fisuras de la capa hidrofóbica externa de la cubierta de la semilla (testa), cuando ésta se ablanda el agua se mueve hacia los cotiledones provocando el aumento de su volumen debido a la hidratación, lo que reduce el tiempo de cocción, estos autores lograron disminuir aún más este tiempo en frijoles usando para el remojo una solución reblandecedora compuesta de sales de sodio. Las semillas de garbanzo se han sometido a cocción en olla abierta, autoclave, y horno de microondas después del remojo. Saleh *et al.*

(2006). Los remojaron previamente en agua destilada encontrando que con el método tradicional (olla abierta) a una temperatura de 100°C los garbanzos se deshacían entre los dedos después de 90 minutos; cuando se utilizó la autoclave a una temperatura de 121 ° C y a 15 lb de presión, a los 35 min los garbanzos también se deshacían entre los dedos, y en horno de microondas a los 15 min.

Se ha experimentado otra forma de remojo capaz de reducir este tiempo, tal como el agua Alotropizada (Esquivel, 2001, 2002, 2003; Garduño, 2003) quienes encontraron que la microestructura también se modifica con este remojo, hay degradación de las paredes celulares y los cuerpos proteicos recuperan su forma esférica. Otro estudio realizado con remojo en solución salina mostró que la microestructura de las células cotiledonarias observadas con microscopía óptica y electrónica se altera desde el inicio del remojo (Garduño, 2003). Es importante un adecuado tratamiento térmico pues este va a mejorar la textura, la palatabilidad y el valor nutritivo de las legumbres (Stanley y Aguilera, 1985). Pero no solo esto, sino que además si utilizamos el tratamiento térmico adecuado habrá un considerable ahorro de energía y de tiempo al cocinar los garbanzos, lo cual redundará de forma importante en la economía, y será atractivo el consumo de garbanzos en la dieta diaria.

La cocción de los garbanzos en horno de microondas no ha sido extensivamente estudiada, sin embargo, en estudios realizados en frijol de soya (Rajko *et al.*, 1997) mostraron que tiene efectos positivos en la digestibilidad de las proteínas (Khattoon y Prakash, 2004), por disminuir el impacto de la cocción en los nutrientes, comparado con el cocinar en forma convencional u olla abierta; en microondas el tiempo de preparación es más corto y se utiliza menos agua

(Sánchez *et al.*, 1981). Además, la energía del horno de microondas es radiación no ionizante, son ondas electromagnéticas en la frecuencia de microondas alrededor de 2.45 GHz que conduce a la generación instantánea del calor dentro del producto debido al movimiento molecular (la migración de iones y a la rotación de dipolos) y no causa cambios en la estructura molecular (Mudgett, 1985).

La microestructura de las semillas comestibles se ha estudiado generalmente a nivel de microscopía electrónica de barrido (Sangronis *et al.*, 2002). Existen pocos estudios a nivel de microscopía óptica y de transmisión (Stanley and Aguilera, 1985; Esquivel *et al.*, 1992) probablemente debido a la dificultad del procesamiento del tejido de las semillas que es bastante duro después de la cosecha y desecación a la que se someten para su consumo. Otros estudios sobre microestructura incluyen solamente partes de la célula como los que se han hecho en harina de garbanzo (Xu *et al.*, 2014). El propósito de esta investigación es contribuir a un mejor conocimiento de la microestructura de las semillas comestibles durante el proceso de remojo previo a la cocción y durante la cocción.

II. ANTECEDENTES

II.1.1 Origen e historia del garbanzo

El garbanzo probablemente se originó en la zona suroeste de Turquía, pero se señalan otros sitios de origen como el norte de Persia, el suroeste de Asia y la cuenca del Mediterráneo. Indicios lingüísticos sugieren que una variedad de garbanzo de semilla grande color crema llegó a la India, probablemente proveniente de Afganistán, por su nombre hindú “kabulli chana” (chana=garbanzo), lo cual hace referencia a la capital afgana (Kabul). El garbanzo hindú es más pequeño y le llaman “deis” (local) (De Miguel, 1991).

En la India apareció hace 2000 años, siendo una planta cultivada desde tiempos remotos. Los egipcios consideraban a los garbanzos sustancias impuras y es probablemente la razón por la que pocas veces se encuentran acompañando restos mortuorios en estas tumbas. Sin embargo, los restos más antiguos de *Cicer sp* datan del año 5450 A.C. y proceden de una región llamada Hacilar en Turquía. Se han encontrado grandes cantidades en estratos que datan de la edad de bronce (3200 A.C.) o quizá, incluso de épocas anteriores (Rodríguez, 1998).

Según 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 (Duke, 1981). Desde que se introdujo en América (durante el segundo viaje de Cristóbal Colón), es actualmente un cultivo importante en México, Argentina, Chile, Perú y Estados Unidos; así como en Australia y algunos países europeos. Es

importante señalar que existen muchas especies silvestres en Turquía, Irán, Afganistán y Asia central (Duke, 1981).

Los garbanzos que se cultivan en México provienen inicialmente de la región del mediterráneo (Francia, España e Italia) y asiática (India y Afganistán), algunas especies mejoradas, que se cultivan en México, son Surotato 77, Sonora 80, Santo domingo 82, Tubutama 88, Mocerito y Blanco Sinaloa 92, recientemente costa 2004 y Costa Noroeste (Gómez *et al.*, 2004).

II.1.2 Taxonomía

La palabra “*cicer*” es de origen latino, y probablemente derive de la palabra preindogermánica “*kickere*”, así mismo la palabra “*arietinum*” es la probable traducción del griego *Arios*, cuyo significado es carnero y garbanzo, haciendo alusión a la forma de la semilla, parecida a la cabeza de un carnero “*Aries*” (De Miguel, 1991). *Cicer* comprende una tribu monogenérica *Cicereae*. El género incluye 9 especies anuales y 34 perennes (Van der Maesen, 1987; Muehlbauer y Sing, 1987), de estos solo una *C. arietinum* se cultiva 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 con *C. pinnatifidum*, *C. echinospermum* y *C. bijugam* (Van der Maesen, 1975). Según sus relaciones genéticas se establecen 4 grupos genéticos: el primero incluye *C. reticulatum*, *C. arietinum* y *C. echinospermum*; el segundo contiene a *C. bijugum*, *C. pinnatifidum* y *C. judaicum*; *C. yamashitae*, *C. chorassanicum*, *C. anatolicum* y *C. soogaricum* forman el tercer grupo; mientras que *C. cuneatum* es el único del cuarto grupo.

El nombre científico del garbanzo es *Cicer arietinum* Linneo (*Cicer arietinum* L.) y se trata de una planta herbácea, de aproximadamente 50 cm de altura, con flores blancas o violetas (fig.1) que desarrollan una vaina en cuyo interior se pueden encontrar 2 o 3 semillas como máximo (fig. 2). Su periodicidad es anual (De Miguel, 1991). Es una planta considerada como resistente a la sequía, en algunas regiones se cultiva bajo condiciones de humedad residual, puede crecer bajo un rango de precipitación de 150 a 1000 mm, siendo el óptimo alrededor de los 650 mm (Gómez *et al.*, 2004).



Figura1. Rama de la planta de garbanzo floreciendo
<https://www.google.com.mx/#q=imagen+de+planta+garbanzo>. 02/02/2015

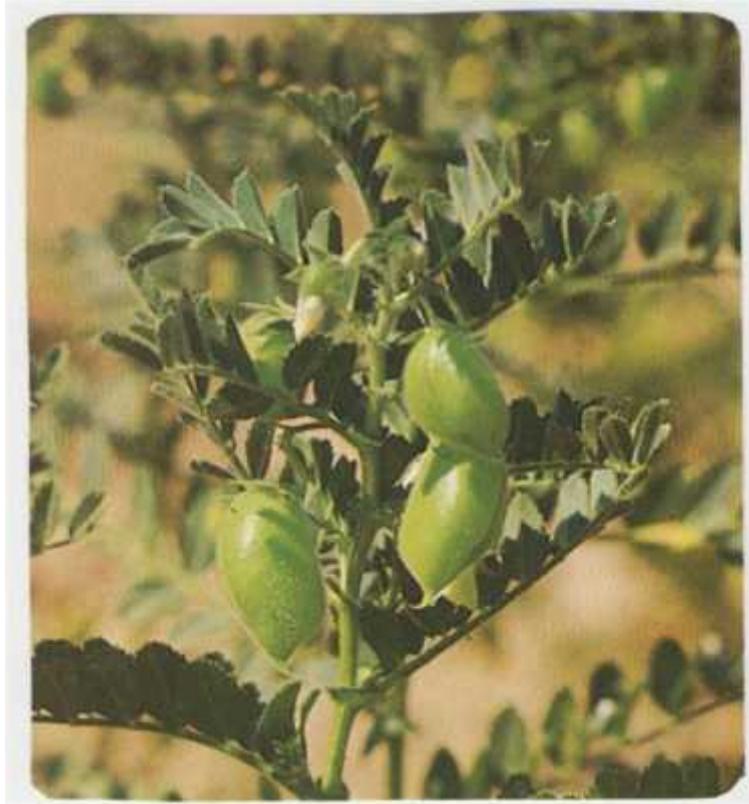


Figura 2. Vainas de plantas de garbanzo

<https://www.google.com.mx/search?q=imagen+de+vainas+de+garbanzo>.19/07/2016



Figura 3. Imagen de Garbanzos tipo kabulli Sinaloa 92.

<https://www.google.com.mx/search?q=imagenes+de+garbanzo+sinaloa>.07/07/216

Las características de la semilla incluyen 0.9525 cm de diámetro; apariencia arrugada con una punta hacia el extremo del micrópilo y coloración blanquecina, crema, o amarillenta (fig. 3). También las hay de apariencia anaranjada, café, rojiza o negra, (fig. 4) encontrándose varias tonalidades dentro de cada color, el peso de la semilla es muy variable, 8 a 70 gr por cada 100 unidades, registrándose los valores más bajos dentro del rango señalado en las semillas de garbanzo tipo Desi (http://es.wikipedia.org/wiki/Cicer_arietinum) consultada el 8 de julio 2012).

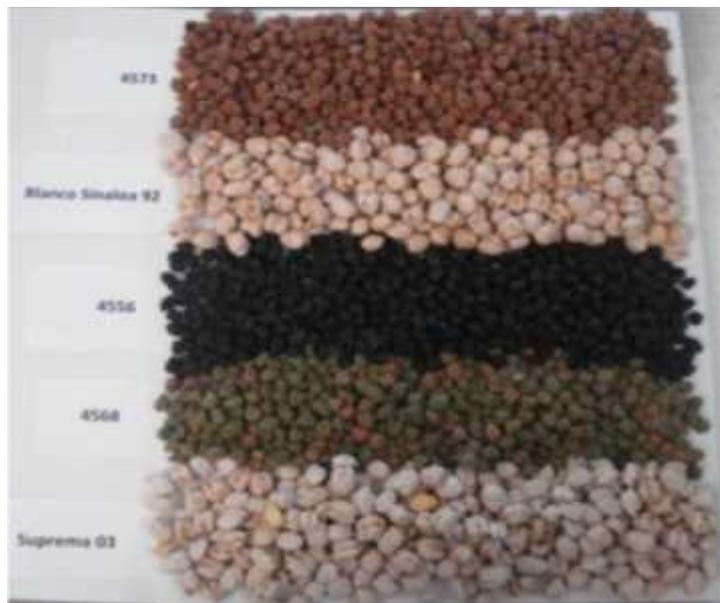


Figura 4. distintas variedades de garbanzo

http://es.wikipedia.org/wiki/Cicer_arietinum 08/07/2012

II.1.3 Nutrientes de la semilla

En 100 gramos de garbanzo puede haber un promedio de 22.7 g de proteínas, 66.3 g de carbohidratos, 5.0 g de lípidos (Wood y Grusak, 2007), 8.0-24 g de fibra cruda, un promedio de 3.6 g de ceniza. En cuanto a vitaminas, presenta de 0 a 225 mg de beta caroteno; 0.21-1.1 mg de tiamina; 0.12-0.33 mg de riboflavina

y 1.3-2.9 mg de niacina. En cuanto a los aminoácidos esenciales por cada 16 g tienen 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, 1.7 g de ácido aspártico, 16.0 g de ácido glutámico, de 4.3 g a 5.2 g de prolina (Duke, 1981; Huisman and Van der Poel, 1994). Los garbanzos también son una fuente rica en minerales (Wood y Grusak, 2007) (Cuadro 1).

CUADRO 1. COMPOSICIÓN DE MINERALES PRESENTE EN EL GARBANZO TIPO KABULLI (mg/100 g DE GRANO SECO).

Mineral	Cantidad mínima	Cantidad máxima
Calcio	40.0	267.0
Magnesio	10.0	239.0
Fosforo	159.0	930.0
Potasio	220.0	1333.0
Sodio	2.1	64.0
Azufre	160.0	200.0
Hierro	3.2	14.3
Manganeso	0.1	9.4
Cobalto	6.0	41.0
Zinc	2.0	5.4
Selenio	0.5	10.0

Wood y Grusak, 2007*

Otros componentes presentes en las semillas de garbanzo son los polisacáridos y las vitaminas (Cuadros 2 y 3).

CUADRO 2. CONCENTRACIÓN DE POLISACÁRIDOS EN EL GARBANZO POR CADA 100 g DE GARBANZO.

Componente	Concentración (%)
Almidón	50.4
Amilosa	20.0-46.5
Celulosa	1.1-13.7
Hemicelulosa	0.6-16.0
Lignina	Trazas a 7.1
Fibra dietética total	8.2-24.0
Fibra dietética soluble	3.7
Fibra dietética insoluble	7.9
Polisacáridos no almidonosos	5.5-35.4

Wood y Grusak, 2007

CUADRO 3. VITAMINAS Y GRASAS POR CADA 100 g DE GARBANZO

VITAMINA A	7.00 mcg
VITAMINA B6	0.535 mg
VITAMINA B9	557.0 mg
VITAMINA C	4.00 mg
VITAMINA E	0.820 mg
GRASA TOTAL	6.04 mg
GRASA SATURADA	6.26 mg

www.rdnatural.es/bloghttp://www.botanical-online.com/garbanzos.htm/garbanzos/26/07/2016

II.1.4 Microestructura

Es importante el estudio de la microestructura de las semillas de garbanzo pues esta se ve modificada con el remojo, así como con la cocción para el consumo humano.

La semilla de garbanzo presenta la disposición característica de las leguminosas y del exterior al interior presenta el siguiente orden:

La cubierta seminal o testa, conformada por células en empalizada, con mayor o menor cantidad de taninos según el tipo del cultivar (Sefa-Dedeh y Stanley, 1979 ²). La parte correspondiente a los cotiledones que ocupan la mayor parte de la semilla presenta tejido parenquimatoso con abundante material de reserva, conformándose de gránulos de almidón con forma elipsoide y/o esférica (Sefa-Dedeh y Stanley, 1979 ³), los cuales ocupan la mayor parte de las células cotiledonarias. Ocupando una tercera parte del citoplasma están los cuerpos proteicos de formas esféricas y embebidas en una matriz proteica, característica de las leguminosas (Stanley y Aguilera, 1985).

Existen pocos estudios acerca de la microestructura del garbanzo específicamente, pero se sabe que es muy parecida a la de otras leguminosas como la del frijol (Noguez, 2011).

En las células cotiledonarias del frijol se presentan los siguientes componentes:

- Pared celular

Es gruesa e interrumpida por los plasmodesmos (Esquivel, 1992) Está formada por microfibrillas de celulosa, hemicelulosa, agua, proteínas, lignina (en frijoles endurecidos), fenoles, iones, lípidos, etc. También contiene del 5 al 10% de compuestos polifenólicos en la forma de complejos polisacáridos, proteína polifenol, además de ciertos polisacáridos neutros (González de la Concha, 1994), algunos de estos son insolubles y en leguminosas son: galactomananos, xiloglucanos y galactanos, que actúan como sustancias de reserva (Brett y Hillman, 1985).

En general, la pared celular consta de tres partes fundamentales: 1) La sustancia intercelular o lámina media; 2) La pared celular primaria; 3) La pared celular secundaria. Las células cotiledonarias sólo presentan pared celular primaria y las contiguas se unen por medio de la lámina media; compuesta por sustancias pécticas, (Stanley y Aguilera, 1985). Por su naturaleza primaria, estas paredes poseen la capacidad de extensión, incrementando rápidamente su superficie durante el crecimiento celular.

- Membrana Plasmática

Formada por una delgada bicapa lipoproteica que aparentemente mantiene su estructura durante la desecación de la semilla por el reemplazamiento de las

interacciones establecidas con el agua por los OH de los azúcares acumulados durante el desarrollo de ésta membrana (Burke, 1986).

- Plasmodesmos

Son canales abiertos que comunican el citoplasma de una célula cotiledonaria con otras, su función es intercambiar sustancias en forma selectiva entre las células (Esquivel *et al.*, 1992; 2002). Están formados por bandas delgadas de citoplasma de forma cilíndrica que penetran las membranas plasmáticas y paredes celulares de dos células adyacentes (Hall *et al.*, 1984; Karp, 1993).

- Cuerpos Proteicos

Los cuerpos proteicos contienen empacadas las proteínas de reserva rodeadas por una membrana simple en las semillas de dicotiledóneas (Müntz, 1982). Estos son semiesféricos, su tamaño varía; en *Phaseolus* presentan un diámetro promedio de 10 μm (Pernollet, 1978), contienen globulinas de tipo faseolina y vicilina, ácido fítico y enzimas hidrolíticas, como las proteasas y fitasas, también contienen cationes y ácido ribonucleico y componentes menores como el ácido oxálico, azúcares y lípidos (Müntz, 1982; Santino *et al.*, 1992; Esquivel *et al.*, 1992).

- Esquinas

Estas estructuras están formadas por las paredes celulares de tres células contiguas que se unen formando un espacio triangular con sus respectivos ángulos (Esquivel *et al.*, 1992).

- Gránulos de Almidón

Los gránulos de almidón son oblongos y de diferentes tamaños (entre 20 y 50 μm), dependiendo de la especie, muestran capas concéntricas de amilosa (moléculas lineales) y amilopectina (moléculas ramificadas) alrededor de un punto llamado hilo, el cual puede estar en el centro del grano o a un lado. Cuando el grano de almidón se hidrata, el hinchamiento diferencial de estos dos componentes acentúa la formación de capas (Esquivel *et al.*, 1992).

Cuando se calienta el almidón en agua se produce la imbibición, o incorporación del agua en el grano, esto se produce primero en las áreas menos densas y, posteriormente en las regiones más cristalinas de las moléculas de almidón. Esta es una etapa reversible en el proceso de gelatinización. A medida que el calentamiento continúa, los gránulos captan más agua irreversiblemente y los gránulos se hinchan; algunas cadenas más cortas de amilosa salen de los gránulos. Este proceso llamado gelatinización es el responsable del espesamiento de los sistemas alimenticios. La estructura cristalina y ordenada del almidón se pierde. Los gránulos dentro de un almidón se hincharán y espesarán formando mezclas a temperaturas ligeramente diferentes, hinchándose antes los gránulos más grandes que los más pequeños. La temperatura de la gelatinización depende del tipo de almidón, (60-71°C) (140-160°F) (Eerlinger y Delcour, 1995).

La energía cinética de las moléculas de agua caliente rompe los puentes de hidrógeno entre las moléculas del almidón (Lupano, 2013).

- Núcleo

En algunas células cotiledonarias se alcanza a observar el núcleo como una masa viscosa amorfa de material rodeado por la envoltura nuclear y en ciertas

ocasiones se ve el nucléolo alrededor del cual se ven grumos de cromatina compacta entre el nucleoplasma (Hall *et al*, 1984; Karp, 1993; Esquivel *et al*, 1992).

La microestructura de las células cotiledonarias se pueden apreciar en la fotomicrografía de la figura 5 (Garduño, 2003).

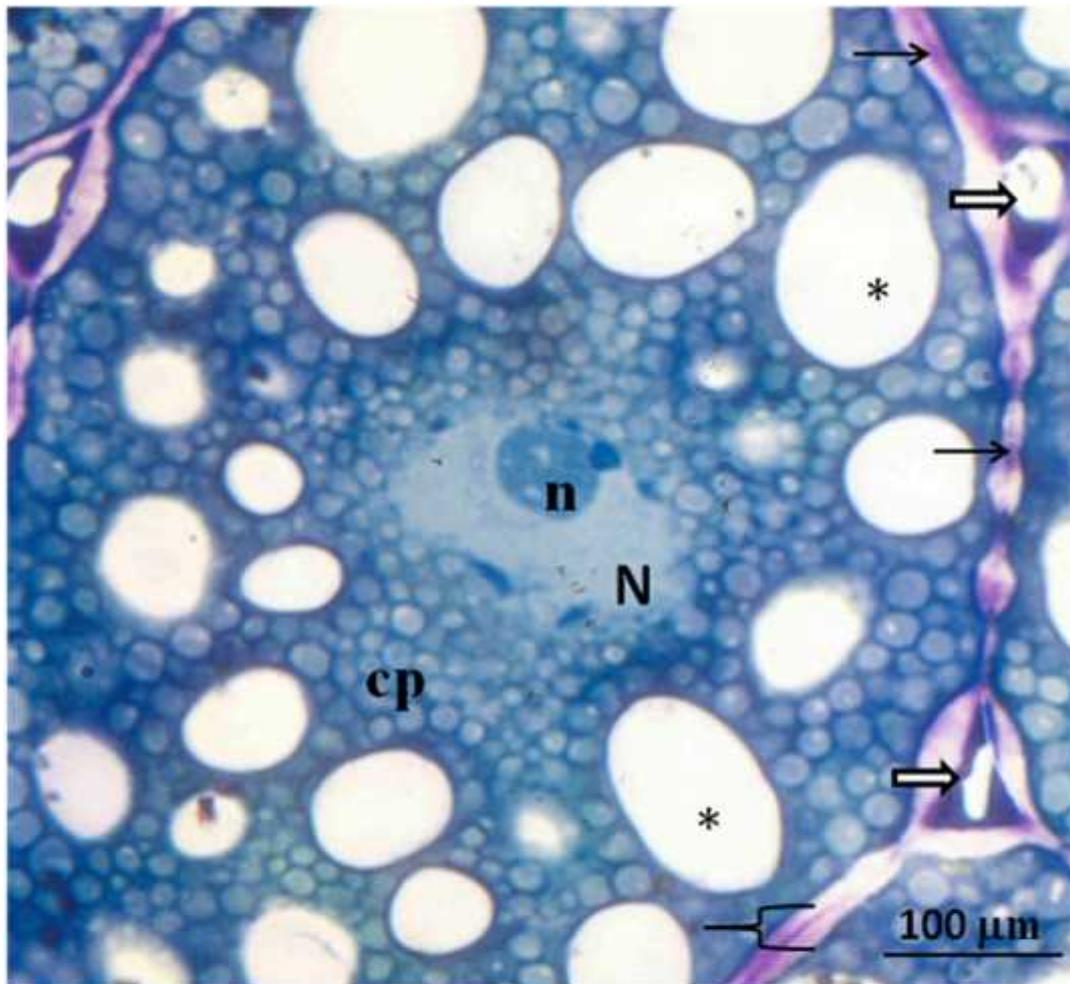


Figura 5. Células cotiledonarias de *Cicer arietinum* L. cultivar Tubutama, teñidas con azul de toluidina. Remojo de 24 horas en agua destilada sin cocción.
Pared celular — Polisacáridos insolubles, Cuerpos proteicos cp, Lámina media →
Esquinas ⇨ Núcleo N. Nucléolo n, Gránulos de almidón *

II.1.5 Condiciones de cultivo

El garbanzo es una planta resistente a la sequía. En algunas regiones su cultivo se practica bajo condiciones de humedad residual y puede crecer bajo un rango de precipitación de 150 a 1,000 mm, siendo el óptimo alrededor de los 650 mm (Gómez *et al.* 2004).

Las plantas no se dañan fácilmente por las bajas temperaturas, comunes en invierno; sin embargo, durante las heladas se pueden afectar en las etapas de floración y formación de las vainas. El rango térmico para su desarrollo es de 5-35°C, con un óptimo de 22°C, una combinación de temperaturas diurnas de 18-25°C y nocturnas de 5-10°C resulta ser adecuada para el desarrollo de la planta del garbanzo (Gómez *et al.* 2004). Los suelos en que se desarrolla adecuadamente son los silicio-arcillosos sin yeso. La profundidad del suelo donde se cultiva es de 25-60 cm. El pH del suelo oscila en un rango de 4.2-8.6, siendo el óptimo de 7 (Gómez *et al.*, 2004).

II.1.6 Importancia económica y distribución geográfica.

De los aproximadamente 10 millones de hectáreas que se siembran de garbanzos a nivel mundial, 7 millones se cultivan en la India, siguiendo Pakistán y después Turquía (Cuadro 4). En Latinoamérica la mayoría se cultiva en México. En Europa los principales productores son España, Italia y Portugal.

Cuadro 4. DISTRIBUCIÓN Y PRODUCCIÓN DEL GARBANZO

PAISES	PRODUCCIÓN AÑO 2011 (toneladas)
INDIA	8,220,000
PAKISTAN	496,000
AUSTRALIA	513,338
MEXICO	216,886.72(2014) INEGI

www.Inegi.gob.mx. 26/07/2016

II.1.7 Producción Nacional

Los cultivos producidos en México son principalmente de dos tipos “desi” y “kabulli”, predominando el de tipo kabulli, pues el garbanzo café y pequeño conocido como forrajero (“desi”) se destina casi en su totalidad a la alimentación del ganado, mientras que el garbanzo de grano grande y blanco (“kabuli”) es para consumo humano, el cual se destina en su mayor parte a la exportación. La calidad del grano “kabulli” 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; SIAP, 2011(Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). En la producción Nacional destacan los siguientes estados productores de garbanzo: Sonora (32,894.87 ton/año). Guanajuato (12,449.55 ton/año). Michoacán (8,883.58 ton/año), Sinaloa (8,660.94 ton/año) y Baja California Sur con 6,556.60 ton/año (SIAP, 2011).

II.1.8 Uso alimenticio

Como alimento se prepara de diversas formas, según las costumbres de cada país, se consumen frescas o recién cosechadas, como vegetales verdes, 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 (Daniel, 1968; Chavan *et Al.* 1986).

En algunos países latinoamericanos, así como en Turquía, el garbanzo es enlatado para elaborar platillos fermentados. También representa una fuente importante como alimento o forraje para el ganado en regiones pecuarias, sobre todo el de tipo "desi" (Daniel, 1968).

En la gastronomía oriental tiene muchas aplicaciones, sobre todo en la India, donde es utilizado para preparar productos a base de harina de garbanzo como el "dhal", el cual es básico para la preparación de muchos platillos tradicionales; la harina es usada también para la elaboración de productos de panadería e incluso en la preparación de sustitutos de leche para infantes no tolerantes a la lactosa. Cuando las semillas son tiernas estas se mezclan con ensaladas. Las plantas tiernas y las vainas verdes son utilizadas como sustitutas de espinacas (Daniel, 1965; 1968).

Sin embargo, es importante mencionar que 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).

Por otro lado, los carbohidratos, la cantidad y el tipo de almidón son causantes de la difícil digestibilidad y la producción de flatulencia. Por este motivo, se

considera que los oligosacáridos están involucrados en la producción de gases durante la digestión de garbanzos en vertebrados, debido a que tienen grandes cantidades de hidrógeno, dióxido de carbono y pequeñas cantidades de gas metano (Anderson *et al.*, 1979; Reddy *et al.*, 1980).

II.1.9 Otros usos del garbanzo

Además del uso alimenticio, el garbanzo posee otras propiedades.

a) Medicinales

En medicina las semillas de garbanzo son usadas como un tónico estimulante afrodisiaco (Pandey y Enumeratio, 1993); también son utilizadas como aperitivo y antihelmíntico, alivia las agruras y son utilizadas principalmente para el tratamiento de la bronquitis, problemas de la piel y enfermedades de la sangre (Sastry y Kavathekar, 1990). También se usa para tratar las enfermedades del hígado y el bazo, estas enriquecen la sangre y curan además de enfermedades de la piel la inflamación del oído (Warner *et al.*, 1995). El germinado de garbanzo ha sido utilizado como hipocolesterolémico (Geerbani, 1991). Prácticamente toda la planta (hojas, tallos y vainas) produce secreciones de ácidos málico y oxálico que en la India se utilizan como afrodisiacos; con estas secreciones también curan la bronquitis, catarros, cólera, dispepsia, insolaciones, verrugas y hasta mordeduras de serpientes (Duque, 1981).

En Chile se prepara una cocción en una de leche- garbanzo en una proporción 1:4 en las dietas infantiles para controlar la diarrea (Duke, 1981; Parada S. (1) y Rozowski N.J. (2) 2008).

Los almidones de los garbanzos están constituidos por una mayor cantidad de amilosa (33 a 66%) a diferencia de otras leguminosas, por lo que presenta un bajo índice glucémico (Lupano, 2013) (Cuadro 5).

CUADRO 5. COMPUESTOS-BIOACTIVOS PRESENTES EN LA SEMILLA DE GARBANZO (Muzquiz y Wood, 2007).

Compuestos	Presencia	Actividad biológica
Oligosacáridos	+++	Prebióticos, flatulencias
Fitatos	+++	Reducción de índice glucémico.
Polifenoles	++	Capacidad antioxidante
Isoflavonas	+	Fitoestrógenos, control metabólico
Lectinas	+	Inhibe el crecimiento de tumores

++++Muy abundante; +++Abundante; ++Bajo; +Muy bajo

b) En La Industria

A partir de la harina se prepara un adhesivo que, aunque no es resistente al agua, sirve para ensamblar láminas de madera (triplay). 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).

II.2.1 Remojo o imbibición del garbanzo previo a la cocción

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 (1979₁) sugirieron que hay tres componentes principales: la testa, el hilo y el micrópilo que juntos forman un sistema integral de absorción-remoción de sustancias de las semillas. Mayer y Poljakof-Mayer (1975) han propuesto que las proteínas son los principales componentes que determinan el índice de imbibición; sin embargo, Sefa-Dedeh y Stanley (1979₁) sugieren que las semillas de las leguminosas no son homogéneas y que algunas propiedades fisicoquímicas podrían influir, como el contenido de proteína, tamaño de hilo, contenido inicial de agua, dureza de la testa y volumen de la semilla.

Hamad y Powers (1965) encontraron que el contenido de pectina tiene relación con la capacidad de hidratación de la semilla; 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 absorción de agua es influenciada por las características 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.

Soluciones reblandecedoras:

a) Agua destilada

El remojo en agua destilada se utiliza como solución reblandecedora testigo, para no utilizar agua corriente de la llave, tal como lo hace el ama de casa en forma cotidiana, la razón es que esta puede contener sales y otros compuestos que desconocemos y no podemos controlar estas variables.

b) Solución salina

Para el consumo de las semillas secas de leguminosas se requiere hidratarlas y darles un prolongado tiempo de cocción.

Rockland y Metzler (1967) abordaron el tema y lo desarrollaron, usando la especie *Phaseolus lunatus* (frijol de Lima) aplicando un procedimiento químico para reducir el tiempo de cocción obtuvieron una disminución de hasta 15 minutos del t_{50} total. Primero usaron una solución de sales inorgánicas Cloruro de Sodio 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 y concluyeron que 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. Los carbonatos alcalinos son los responsables de controlar el pH del medio además de influir en el sabor y en el tiempo medio de cocción. La imbibición y la disminución en el tiempo medio de cocción se deben a los agentes activos anteriores (Rockland *et al.*, 1979).

c) Agua Alotropizada

Esta agua es preparada con celdas alotrópicas, las cuales se utilizan 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 fisicoquímicas esenciales (Comunicación personal Ing. Raúl Patiño, 2012). (figura 6).

Tomando en cuenta que el agua Alotropizada no permite la formación de cristales de sales en tuberías industriales, se estimó que este tipo de agua también podría “remover” algunas sustancias cotiledonarias y por lo tanto influir en el tiempo de cocción (Garduño, y Serrano 2003)



Figura 6. Celdas alotrópicas

<http://seia.guanajuato.gob.mx/document/EXPO2012/Espacio/Alotropizacion>. 13/10/14

II.2.2. Otros factores que influyen en el proceso de remojo o imbibición

Además de la estructura propia de la semilla; Hsu *et al* (1983) determinaron que una solución hasta de 1% de NaCO₃ 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 “lentitud” del remojo; efecto que puede ser disminuido con un pre-remojo 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 en metanol” (Hsu *et al.*, 1983), así mismo, determinaron que la máxima absorción presenta una pequeña correlación con el contenido de proteína, la densidad y el tamaño de la semilla. El endurecimiento afecta principalmente a los cotiledones, pero la cubierta seminal (testa) juega también un papel muy importante debido a que en ella se encuentran polifenoles, que contribuyen al sabor y firmeza de los frijoles para su consumo.

Se sabe que durante el endurecimiento hay un incremento en el contenido de estos polifenoles, los cuales pudieran intervenir formando complejos con proteínas y otros componentes que pudieran participar en el endurecimiento (Ricco *et al.*, 2003)

II.2.3 Métodos de cocción

La información acerca de cómo afecta el método de cocción a las características físicas funcionales y estructurales a las semillas de garbanzo es escasa (Clemente *et al.*, 1998).

El tiempo que dura el grano en cocerse completamente sin llegar a desintegrarse se llama periodo de cocción y no debe ser mayor a una hora, previo remojo de 12 horas, lo cual puede variar de acuerdo al tipo de semilla, temperatura y humedad, así como el tiempo de almacenamiento y según la altitud del lugar, pues depende de que tan rápido se alcance el punto de ebullición (Saleh *et al.*, 2005). Se obtiene una buena cocción cuando el grano se cuece uniforme y puede moldearse al tacto, formando una masa suave sin quedar grumos de almidón o testa, lo que determina que una semilla sea de buena calidad es su tamaño, color, rugosidad y tiempo de cocción (Saleh *et al.*, 2006).

Las semillas de las leguminosas tardan mucho en cocerse, lo cual crea problemas en función de su palatabilidad y de la activación de ciertos compuestos antinutricionales (Khokhar y Chanhan, 1986; Taiwo *et al.*, 1997).

Al igual que la hidratación, el proceso de cocción también incluye factores múltiples, el descascarillado y la abrasión contribuyen también para lograr el tiempo de cocción (Kosson *et al.*, 1994; Otto *et al.*, 1997). Incluso los procesos de hibridación interespecífica (Singh, 1997) y la composición de los lípidos está 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 y Aguilera, 1985; Reyes-Moreno *et al.*, 2002).

La relativa afinidad por cationes Ca^{++} y Mg^{++} quizás juegue un papel principal en la cocción de las legumbres, el cambio en el pH, el grado de hidratación, la estabilidad en la mezcla de sales en la pared celular, pueden también jugar un papel importante en la cocción (Ganesh K. *et al.*, 1978). En la literatura, estos procedimientos son referidos de manera esporádica en la primera mitad del siglo XX (Snyder, 1936). No es hasta la segunda mitad de este siglo cuando se realizan estudios formales acerca de la cocción y sus procesos fisicoquímicos relacionados (Morris, 1956; Siddapa 1959; Rockland *et al.*, 1967; Rockland, 1972; Rockland *et al.*, 1975; 1979).

Esto coincide 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.

La problemática de la cocción de los alimentos es tan antigua 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).

a) Método tradicional o de olla abierta

En los hogares frecuentemente se utiliza una olla o cacerola de peltre o de aluminio, en la cual vierten agua suficiente según la cantidad de garbanzos que se pretenden cocinar y cuando el agua alcanza la ebullición agregan los garbanzos, cuidando que queden completamente cubiertos de agua y un poco más, esto después de haberlos remojado previamente toda la noche; tardan 60 min en promedio en adquirir una consistencia blanda al tacto, lo cual indica que ya se han cocido completamente.

b) Método en olla de presión

La cocción a presión es el método más efectivo para romper la pared celular y para desplegar la proteína, exponiendo de esta manera los aminoácidos polares, capaces de retener agua (Xu *et al.*, 2014).

Los dos métodos anteriores son de cocción cualitativos, pues cuando se desintegran entre los dedos es que sabemos que se han cocinado y no hay forma de medir la cocción de éstos.

c) Método en cocinador Mattson

Este método de cocción es un método cuantitativo, pues en éste si es posible medir la cocción de los garbanzos, pues cuando han caído 13 pesas de las 25 es que podemos determinar el promedio de la cocción.

Este cocinador ha sido modificado por Esquivel y Tovar (1994), consiste de tres discos metálicos, sostenidos por tornillos o espárragos. Los dos discos superiores son de lámina de latón de 1/16 de pulgada y un diámetro de 20 cm. El tercer disco de la parte inferior es de acero inoxidable, y del mismo diámetro que los superiores, pero de un grosor de 1/4 de pulgada, este lleva 25 perforaciones de 3/8 de pulgada de diámetro superior y 5/12 de pulgadas de diámetro inferior, en estas se colocan las semillas y sobre ellas unas varillas de latón de 25 cm de largo y 1/8 de pulgada de diámetro con un extremo en punta y el otro redondeado. Las dos placas superiores también llevan 25 perforaciones que coinciden con las 25 de la placa inferior. A través de estas perforaciones se colocan las varillas con la punta sobre las semillas y sobre su extremo

redondeado se colocan contrapesos de hierro desmontables de 12 mm de diámetro por 34 mm de largo y un peso de 82g. (Fig.7).

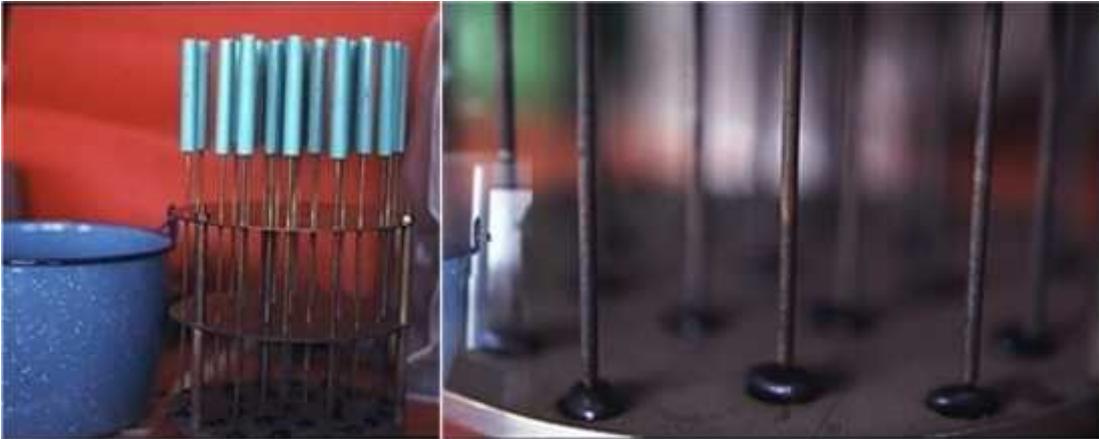


Figura 7. Cocinador Mattson (Esquivel y Tovar, 1987)

d) Método en horno de microondas

Este método de cocción al igual que el método tradicional de olla abierta y el de olla de presión son métodos cualitativos

El horno de microondas se ha utilizado recientemente para análisis cualitativos pues la cocción de los garbanzos se determina de la misma forma, reducir en forma importante el tiempo de preparación de una gran variedad de alimentos (cocinar, descongelar, escaldar, secar, pasteurizar, esterilizar, deshidratar, y recalentar, etc.) pero rara vez para la cocción de legumbres. Solo se ha estudiado en la pasteurización y esterilización de productos lácteos (Decareau, 1985 y Miguel 1991).

La energía de las microondas con los recipientes cerrados se ha utilizado exitosamente en el campo analítico para la hidrólisis rápida del ácido de las proteínas (Marconi *et al.*, 2000).

La radiación no ionizante de las microondas es la que conduce a la generación instantánea de calor dentro del producto debido al movimiento molecular (migración de iones y la rotación de dipolos) sin causar cambios en la estructura molecular del alimento (Mudgett, 1995). Lo cual ha demostrado que la cocción en microondas afecta menos a los nutrientes de los alimentos que, cuando se cocinan en la forma tradicional (proteínas, vitaminas, etc.) debido a que el tiempo de preparación es más corto y se utiliza menos cantidad de agua (Sánchez *et al.*, 1981). El efecto de cocinar con microondas en semillas secas no se ha investigado completamente, los pocos estudios que hay han sido utilizando el horno de microondas solo para calentar los alimentos pretratados: escaldados, congelados y hervidos (Nyman *et al.*, 1994; Svanberg *et al.*, 1997, 1999; Velasco *et al.*, 1997; Zyren *et al.*, 1983).

III. OBJETIVOS

III.1.1 Objetivo general

Investigar los cambios microestructurales a nivel de microscopía óptica en las células del cotiledón de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) previo remojo con una solución reblandecedora (solución salina) y cocción en horno de microondas.

III.1.2 Objetivos particulares

1.- Determinar si las curvas de hidratación son semejantes al utilizar el agua destilada como testigo comparándola con el remojo en SSM y los cambios microestructurales con los tipos de imbibición.

2.-Determinar si los tiempos de cocción cambian según la solución utilizada en el remojo y que cambios microestructurales ocurren.

3.- Determinar que método de cocción es mejor (horno de microondas respecto al cocinador Mattson).

4.- Comprobar que el horno de microondas puede ser una buena alternativa como método de cocción para aprovechar de mejor manera los nutrientes del garbanzo.

5. Determinar si existe una potencialización en el tiempo en el que se cocen los garbanzos utilizando como método de cocción microondas con previo remojo en solución salina.

IV. METODOLOGIA

1V.1.1 Material biológico.

Garbanzos secos (*Cicer arietinum* L), cultivar 92 proveniente de los Mochis Sinaloa, México. Para el presente estudio se utilizaron semillas de garbanzos almacenadas en frascos cerrados herméticamente a 4°C en el refrigerador hasta su uso. Bajo estas condiciones la literatura reporta que se mantienen frescas durante años porque el tiempo de cocción no cambia (Esquivel, 1992).

IV.1.2 Remojo o hidratación de las semillas de garbanzo para obtención de las curvas de hidratación

22 semillas de garbanzos (16.5 g aproximadamente) fueron colocados en 8 frascos diferentes, a los primeros 4 se les agregó agua destilada (lote testigo) y a los otros 4 solución salina modificada (SSM) (lote experimental) hasta cubrirlos con el triple del volumen de los líquidos (500 ml. Aprox.) después de que los garbanzos fueron remojados el líquido fue drenado para poder hacer la medición

del peso, partiendo de las 8:00 h (tiempo inicial) después a las 8:30, a las 9:00, a las 9:30, se continuo midiendo el peso (g) durante 42 horas; se hicieron cuatro repeticiones de cada remojo para obtener el incremento en peso (g) a medida que se aumentaba el tiempo (h) y poder obtener las curvas de hidratación.

IV.1.3 Semillas de garbanzo sin cocción

Se remojaron durante 12 horas 5 semillas (25°C, 5:1 p/v (relación de agua-garbanzo) en agua destilada (testigo) y 5 semillas se remojaron en SSM (experimental) de cada lote se tomó una semilla al azar para su estudio por microscopia óptica.

IV.1.4 Cocción de las semillas de garbanzo en el cocinador Mattson

Se embebieron o remojaron durante 12 horas 100 semillas de garbanzo en agua destilada (testigo) y se cocinaron en el cocinador Mattson en 4 partes, cada una de 25 semillas pues esta es la capacidad del cocinador Mattson; y otras 100 semillas se embebieron en SSM (lotes experimentales) también en 4 partes o repeticiones de 25 cada una, en total se utilizaron 200 semillas para este estudio.

En el cocinador Mattson (Mattson, 1946), modificado por Tovar y Esquivel (Tovar, 1997), se colocaron primero 25 semillas en el cocinador y se introdujo en una olla de peltre con 4 litros de agua destilada hirviendo, en el momento de sumergir el cocinador Mattson se tomó el tiempo inicial. Cuando el 50% de las varillas atravesaron los garbanzos, se tomó el tiempo nuevamente (Tiempo final). Después se calculó el tiempo medio de cocción (T_{50}) restando el tiempo final del Tiempo inicial ($T_f - T_i$). Lo mismo se hizo tanto en los testigos como en los experimentales en las cuatro repeticiones.

IV.1.5 Cocción de las semillas de garbanzo en el horno de microondas

Se utilizó un horno de Microondas Mabe Modelo HMM74MB; Tensión nominal (Volt) 127 V; Frecuencia nominal (Hertz) 60 Hz; Potencia nominal (Watts) 700 W.

Se tomaron 25 semillas de garbanzo al azar, embebidas en agua destilada y se cocinaron en el horno de microondas en un vaso de precipitados de 500 ml. con agua destilada hasta la mitad de su capacidad para cocerlas a la máxima potencia a los 6, 8, 10, 12, 14 min, hasta sentir la textura de cocimiento. Lo mismo se hizo con las embebidas en SSM. Se llevaron a cabo 4 repeticiones de cada uno de los tiempos de cocción. Fig. 8

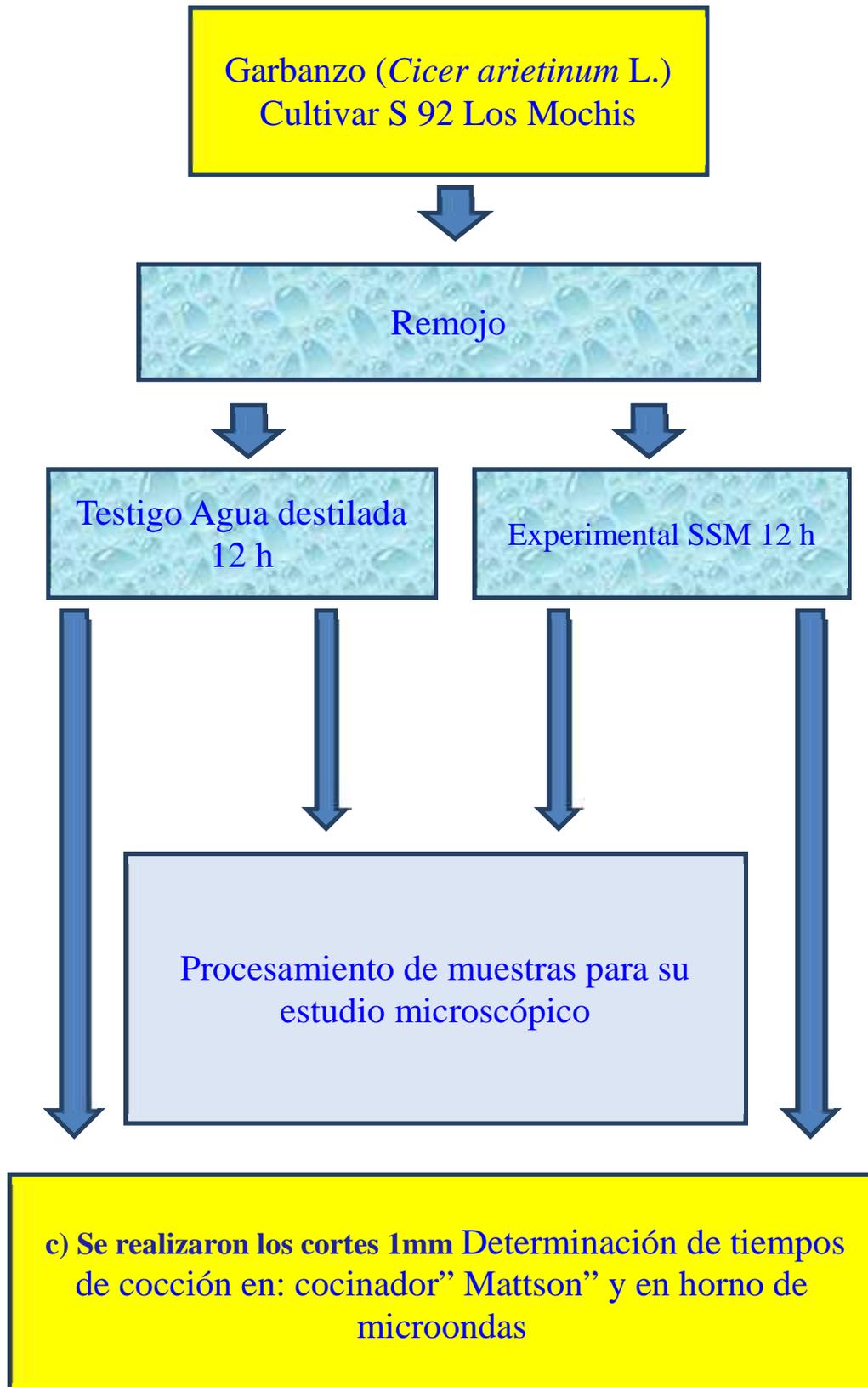


Figura 8. Diagrama de flujo general del método seguido para el procesamiento de las muestras

IV.1.6 Procesamiento del material para microscopía óptica

Se seleccionaron al azar las semillas embebidas en agua destilada y lo mismo se hizo con las embebidas en SSM para realizar los cortes.

Para realizar los cortes, a las semillas se les retiró la testa, se separaron los cotiledones, después se realizaron los cortes de los cotiledones en cortes transversales del tercio medio de los cotiledones de aproximadamente 1 mm de grosor, de los cuales, a su vez, se tomaron secciones radiales no mayores a 3 mm de grosor a partir de la epidermis externa de los cotiledones. (Figura 9).



Figura 9. Secuencia del seccionado de las semillas para la obtención de cortes ultrafinos de los cotiledones de garbanzo (Garduño, 2003).

Una vez obtenido las muestras de cotiledones, se fijaron con Glutaraldehído 3% más paraformaldehído 1.5% (fijador doble) en amortiguador Sym de Collidina 0.1 M a pH 7.4 más sacarosa 0.12 M. Luego se realizaron 5 enjuagues de 5 minutos cada uno en el amortiguador de collidina a dilución 1:1, de la solución original; enseguida se procedió a la deshidratación con alcoholes graduales (30, 50, 70, 85 y 96%) durante 15 minutos cada cambio; más tres cambios en alcohol absoluto (20 minutos cada uno). La pre-inclusión se llevó a cabo en resina LR White de Polysciences, Inc. (Ruiz, 1999), al 25, 50, y 75% diluidas en alcohol absoluto durante 4 horas cada cambio. Finalmente, la inclusión se realizó en resina LR White pura (3 cambios de 20 minutos cada uno) y las secciones de

tejido se incluyeron en LR White puro en cápsulas de inclusión del número 1 (0.5mL) y se polimerizaron durante 18 horas a 65°C en cámara de polimerización. Una vez que se obtuvieron las cápsulas con los trozos de tejido incluidos, se realizaron los cortes de 1 y 3 micras de grosor en un ultramicrotomo LEICA ULTRACUT R. Los cortes semifinos se tiñeron con Azul de Toluidina al 0.5% con el fin de evidenciar la microestructura general. Se tomaron fotomicrografías de los cortes a color en campo claro 50X de las diferentes técnicas histoquímicas con un microscopio fotónico Marca Olympus modelo Provis AX70. Fig.10

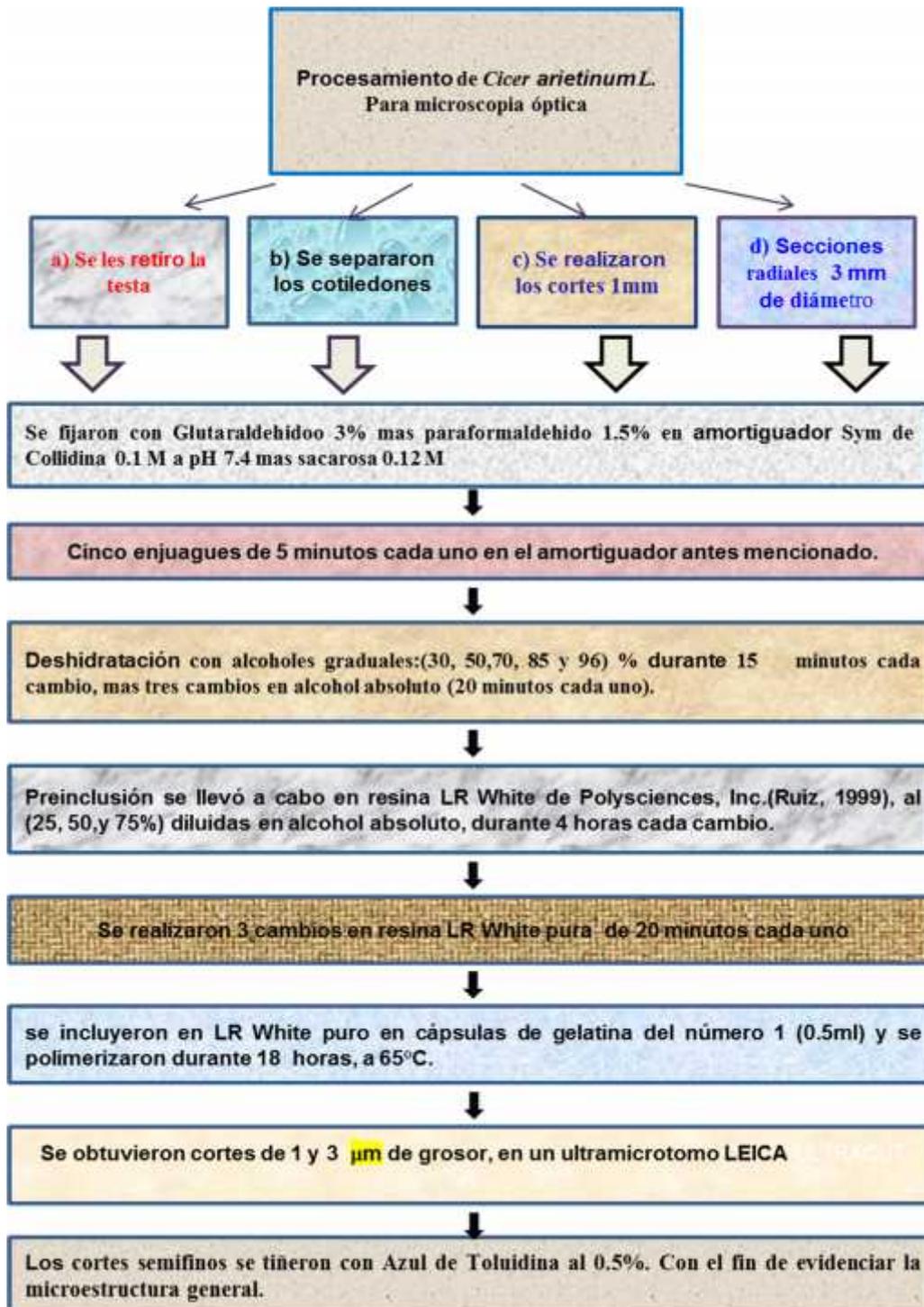


Figura 10. Diagrama de flujo que muestra el procesamiento de las muestras para microscopía óptica

IV.1.7 Pruebas histoquímicas

Después de hacer la tinción de azul de toluidina para evidenciar la estructura general de las células cotiledonarias se realizaron las pruebas histoquímicas, en las que se utilizaron colorantes específicos como Lugol (Johansen, 1940) para detectar gránulos de almidón; Acido peryódico-reactivo de Schiff (PAS) para detectar polisacáridos insolubles más Azul negro de naftol para mostrar Cuerpos proteicos (López-Curto *et al.*, 1998); Permanganato de potasio para evidenciar Polifenoles y polisacáridos insolubles (Hall y Hawess, 1991); Vainillina para detectar taninos condensados.

V. RESULTADOS

V.1.1 Curvas de hidratación

Como se puede observar en la figura 1. La Hidratación en la solución testigo (agua destilada) y la experimental (SSM) fue muy semejante en las primeras 2.5 h. Con agua destilada las semillas se hidrataron más que con SSM. Se observó que de las 15 a las 42 horas las semillas embebidas en agua destilada absorbieron 18 g de agua, en cambio las embebidas en SSM solo absorbieron 17 g de agua en el mismo lapso de tiempo. Se aplicó una prueba de t de Student para muestras pareadas, con el fin de comparar si los datos en los dos tratamientos (AD y SSM) tenían diferencia significativa. Se encontró que sí la tienen ($t=17.911$, $g.l.=47$, $p<0.01$) y se hizo la prueba con el paquete STATISTICA, Versión 8 (Stat Soft Inc.).

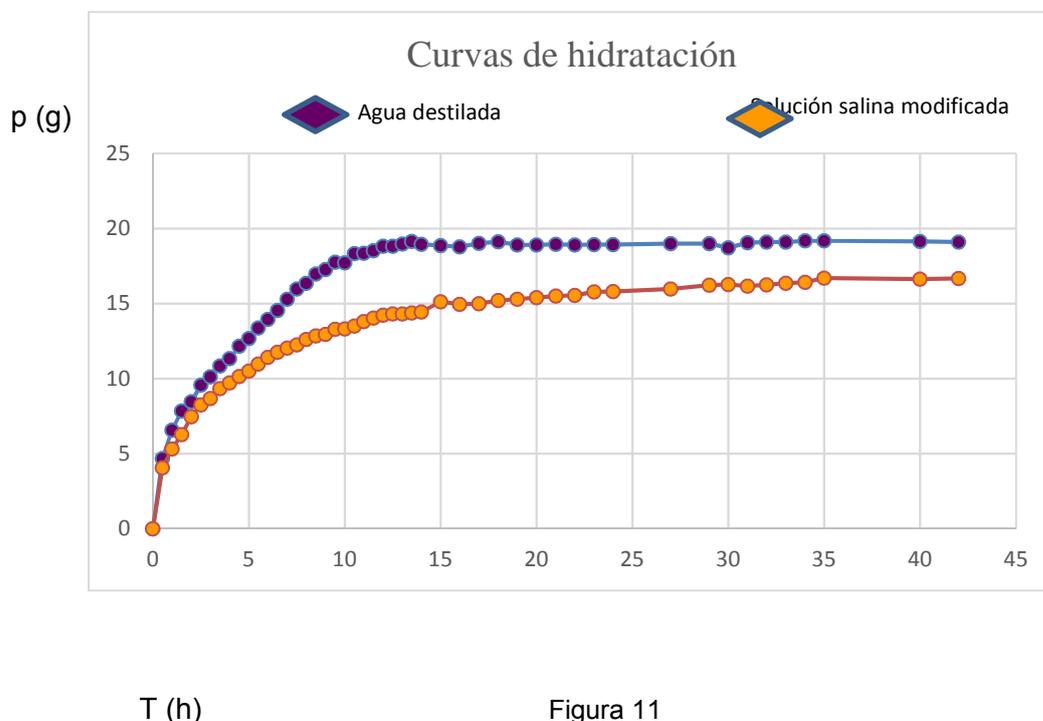


Figura 11
Se muestra la curva de hidratación de agua destilada y solución salina modificada

V.I.2 Análisis con microscopía óptica de semillas con remojo y sin cocción

En la siguiente micrografía se observa que las células cotiledonarias de las semillas colocadas en agua destilada (a) son más grandes que las colocadas en SMM (b), por lo que embebieron más agua. Las paredes celulares se ven más gruesas y uniformes en el remojo en agua destilada (a), a diferencia del remojo en SSM (b), en donde éstas son más delgadas y en algunas regiones casi no se aprecian. La lámina media se aprecia mejor en (a) que en (b). Los gránulos de almidón son por lo general más grandes en (a) que en (b). Las esquinas de las células, espacio donde se unen tres células () , las semillas embebidas en agua destilada son más grandes, a diferencia de las embebidas en SSM (b) pues las células se presentan aglomeradas y son más pequeñas. (Fig. 12)

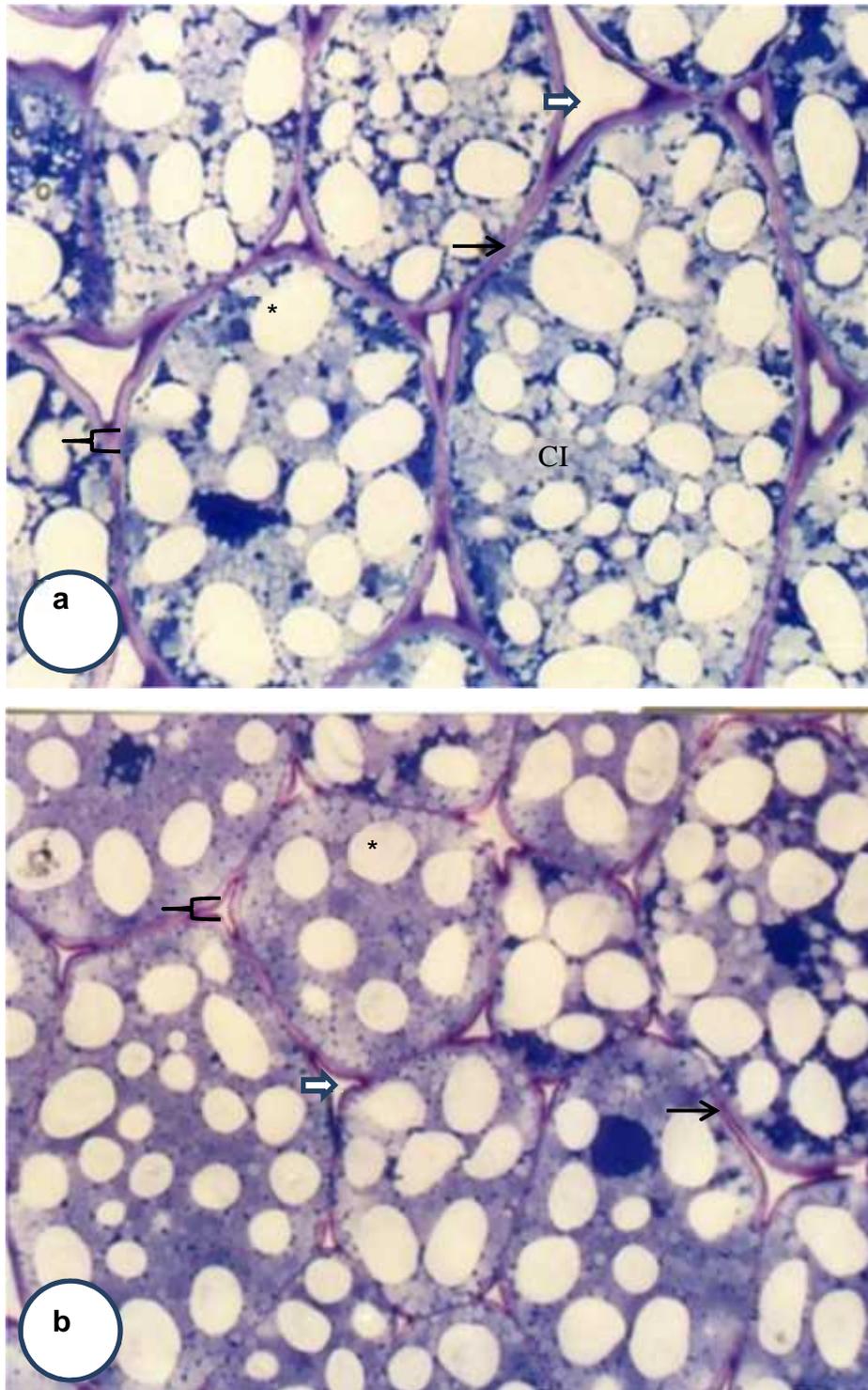


Figura 12. Microestructura general de las células cotiledonarias del garbanzo (*Cicer arietinum* L.) cultivar Blanco S 92. Embebidas en agua destilada 12 h (a) y en Solución Salina 12 h (b). Aumento 400X. Teñidas con azul de toluidina. Pared celular La lámina media → Gránulos de almidón (*) Citoplasma CI, Esquinas ⇨

V.1.3 Tiempos de cocción de las semillas de garbanzo con el cocinador Mattson y el horno de microondas

En el cuadro 6 se muestra la comparación entre los tiempos de cocción de los garbanzos embebidos con agua destilada y otros con SSM. También se muestra el cálculo de los porcentajes de disminución entre los dos remojos y los dos tipos de cocción.

Los garbanzos que fueron remojados en agua destilada durante 12 h y después sometidos a cocción en el microondas, mostraron una disminución del 19.47 % tomando como el 100% el tiempo que se obtuvo en el cocinador Mattson (66.75 min).

Los garbanzos que fueron remojados en SSM durante 12 h y después sometidos a cocción en el horno de microondas mostraron una disminución de 29.2% tomando como el 100% el tiempo que se obtuvo en el cocinador Mattson (32.8 min).

En la comparación de agua destilada (66.75 min) con el remojo entre SSM (32.8min) con el cocinador Mattson, hubo una disminución del 49.13% tomando como el 100% el remojo en agua destilada. Cuadro 6 y figura 13

Cuadro 6. TIEMPOS PROMEDIOS DE COCCIÓN DE GARBANZOS (MINUTOS) Y % DE DISMINUCIÓN ENTRE DOS TIPOS DE IMBIBICIÓN Y DOS TIPOS DE COCCIÓN

Embebidos en:	Cocinador Mattson	Microondas	% Disminución entre los dos tipos de cocción
Agua destilada	66.75	13.0	19.47
SSM	32.8	9.5	29.2
% Disminución entre los dos Tipos de remojo	49.13	73.07	

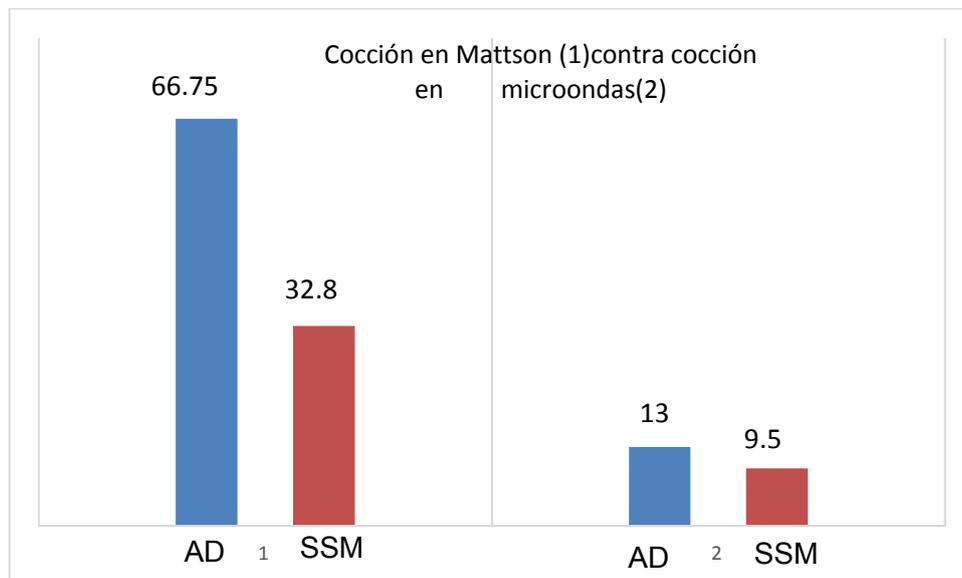


Figura 13. Comparación entre los dos métodos de cocción y los dos tipos de remojo

Se utilizó una prueba no paramétrica de Mann Whitney para comparar los tiempos de cocción entre los dos remojos (AD y SSM) en cada método de cocción. Y se encontró que en la cocción con cocinador Mattson si hubo diferencias significativas ($Z=2.33$, $p<0.05$) en el horno de microondas también hubo diferencias significativas ($Z=2.29$, $p<0.05$)

En base a la gráfica anterior podemos afirmar que:

- a) Los garbanzos remojados en solución salina se cocieron más rápido que los remojados en agua destilada en ambos métodos de cocción.
- b) Los garbanzos cocinados en el horno de microondas con remojo en SSM se cocieron más rápido que los remojados en agua destilada.
- c) Los garbanzos cocinados en microondas con ambos remojos se cocieron notablemente más rápido que los cocinados en cocinador Mattson.

V.1.4 Pruebas histoquímicas

La prueba histoquímica PAS+ANN, para evidenciar cuerpos proteicos y polisacáridos insolubles, resultó positiva en ambos remojos y en los dos métodos de cocción.

La prueba histoquímica de permanganato de potasio, para observar polifenoles, resultó positiva para los dos remojos y métodos de cocción.

La prueba histoquímica con yodo-yoduro de potasio (Iugol) para observar gránulos de almidón resultó positiva para ambos remojos y métodos de cocción.

La vainillina tiñe de color rojo los taninos y otros compuestos susceptibles a la oxidación, esta resultó negativa en todas las pruebas. (Cuadro 7)

CUADRO 7. PRUEBAS HISTOQUÍMICAS

SIN COCCIÓN			CON COCCIÓN			
			C. MATTSON		H. MICROONDAS	
	AGUA DESTILADA	SSM	H ₂ O DESTILADA	SSM	H ₂ O DESTILADA	SSM
LUGOL	+++	+++	+++	+++	+++	+++
KMnO ₄	+++	+++	+++	+++	+++	+++
PAS+ANN	+++	+++	+++	+++	+++	+++
VAINILLINA	-	-	-	-	-	-

+++ Indica que la prueba fue positiva

- Indica que la prueba fue negativa

V.1.5 fotomicrografías de la microestructura de las células cotiledonarias con remojo o imbibición

En las figuras se presentan las fotomicrografías de los cortes de las muestras de cotiledones de semillas de garbanzo las de la izquierda fueron embebidas en agua destilada (AD) y las de la derecha en solución salina (SSM). Tratadas con las distintas pruebas histoquímicas.

Prueba histoquímica de **lugol**, específica para observar gránulos de almidón (Figura 14)

Sin cocción (A, B)

Se observa que los gránulos de almidón sin cocción embebidos en AD muestran forma ovalada a diferencia de los embebidos en SSM que se observan oblongos, lo cual coincide con (Garduño, 2003) ambos de coloración muy intensa solo que estos últimos con otra tonalidad

Cocción en cocinador Mattson (C, D)

Tanto los embebidos en agua AD como en SSM, los gránulos de almidón se observan en forma ovalada, sin embargo, los embebidos en AD son de mayor tamaño que los remojados en SSM

Cocción en horno de microondas (E, F)

Se observa claramente la gelatinización de los almidones (*) producida por el tratamiento térmico de la cocción en la que los gránulos de almidón son de mayor volumen, pierden su individualidad y coalescen unos con otros. La tonalidad de la prueba histoquímica con lugol para almidones en AD se mostraron opacos a diferencia de los embebidos en SSM que se observaron con una coloración más intensa.

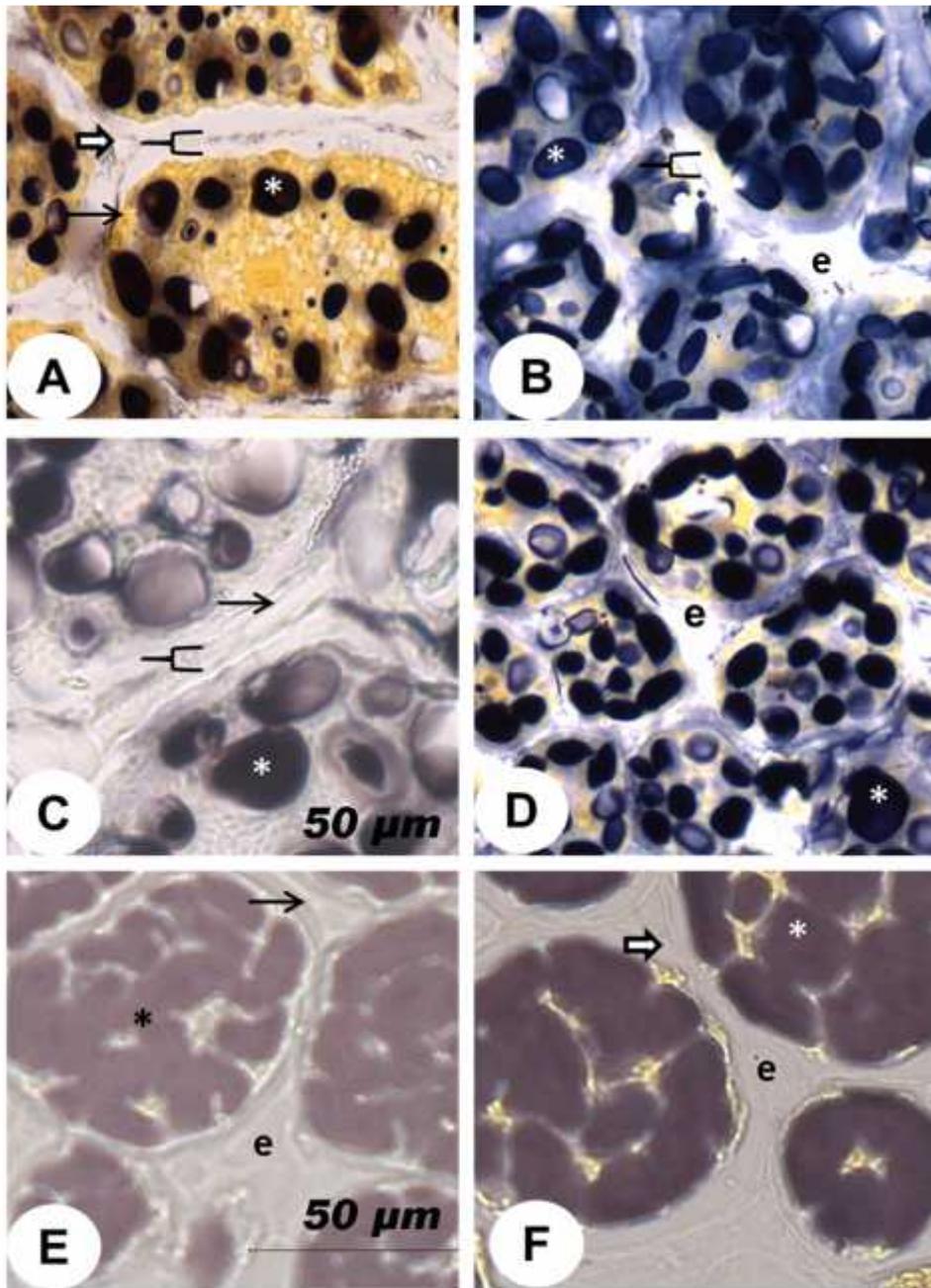


Figura 14. Prueba histoquímica: Lugol, específica para la observación de gránulos de almidón en células cotiledonarias de *Cicer arietinum* L. cultivar blanco los Mochis Sinaloa. Las de la izquierda fueron embebidas en agua destilada (A, C, E); Las de la derecha fueron embebidas en SSM (B, D, F). A y B sin cocción; C y D cocinadas en C. Mattson; E y F cocinadas en horno de microondas.

Gránulos de almidón *, Pared celular —┘, Lámina media →, Espacios intercelulares e, Esquinas ⇨

Prueba histoquímica de **Permanganato de Potasio (HMNO_4)** específica para observar polifenoles (Figura 15)

Sin cocción (G, H)

Con agua destilada, los polifenoles se aprecian perfectamente entre los espacios que hay entre los gránulos de almidón a diferencia que en (SSM) en donde no son tan evidentes.

Cocción con cocinador Mattson (I, J)

En agua destilada al igual que en (SSM) Los polifenoles se aprecian alrededor de los gránulos de almidón y en la lámina media.

Cocción en horno de microondas (K, L)

En agua destilada la reacción fue más intensa, a diferencia de (SSM) en donde ésta fue más suave; en ambos remojos los polifenoles se encuentran concentrados en ciertas regiones inmersos entre los gránulos de almidón, así como en la lámina media.

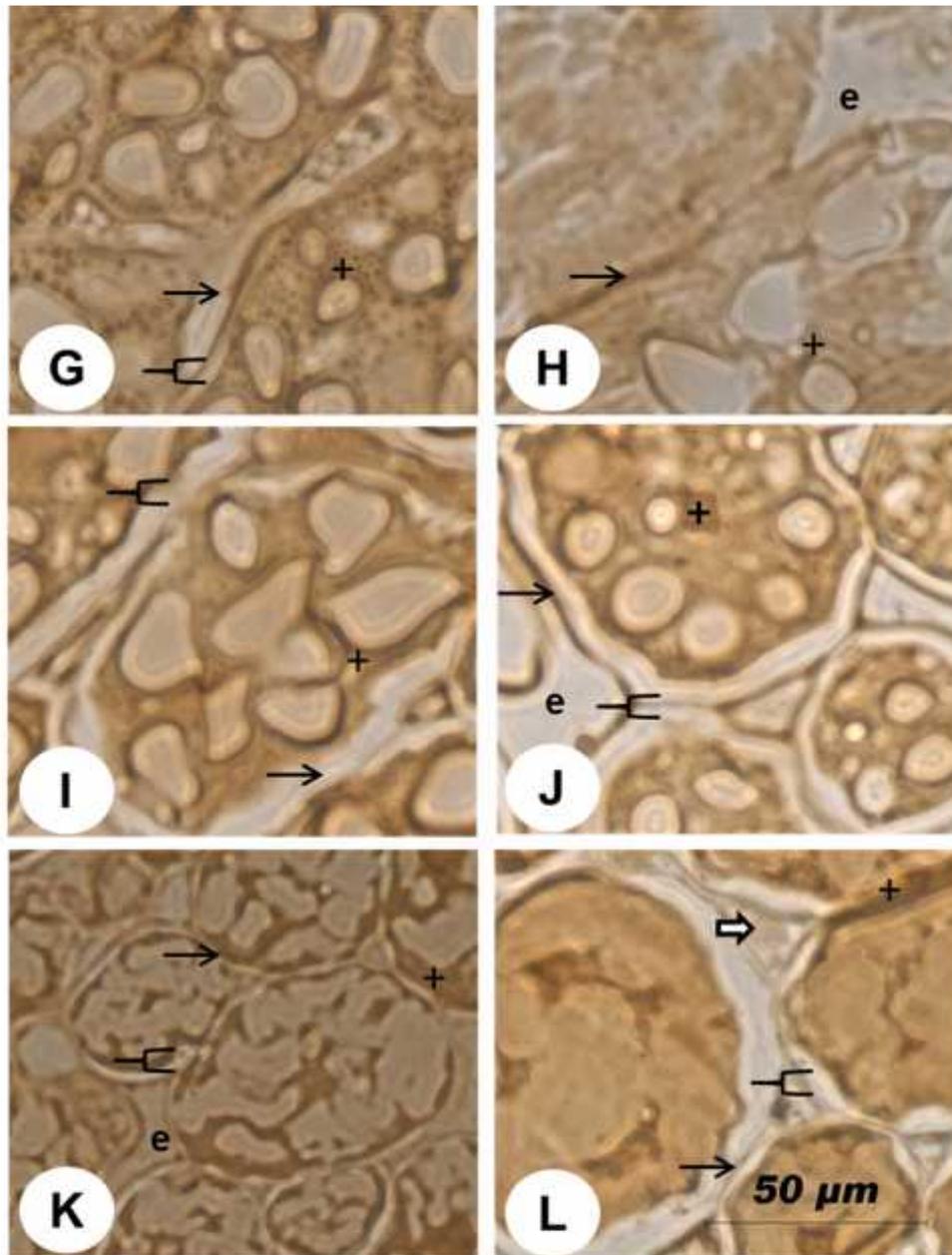


Figura 15. Prueba histoquímica: Permanganato de potasio (KMnO₄) para la observación específica de polifenoles en células cotiledonarias de *Cicer arietinum* L. cultivar blanco S 92. Las de la izquierda fueron embebidas en Agua destilada (G, I, K) y las de la derecha en SSM (H, J, L). G y H sin cocción; I y J cocinadas en cocinador Mattson K y L cocinadas en horno de microondas
 Pared celular, —┌ Polifenoles +, Espacios intercelulares e, Lámina media →, Esquinas ⇨

Prueba histoquímica PAS+Azul Negro de Naftol específica para observar cuerpos proteicos y polisacáridos insolubles (Figura 16).

Sin cocción (M, N).

Tanto en el remojo con AD como en SSM, se observan los cuerpos proteicos como puntos color azul oscuro, distribuidos alrededor de los gránulos de almidón (*) en forma ovalada; también se observan en la pared celular y en las esquinas (donde coalescen las células contiguas). Los polisacáridos insolubles se observan en color rojizo en los gránulos de almidón y en las paredes celulares en el remojo con SSM los cuerpos proteicos se ven destruidos, sin embargo, el color azul muestra la presencia de proteínas, en la parte inferior se observó la ruptura de una célula.

Cocción con cocinador Mattson (Ñ, O).

En ambos remojos los cuerpos proteicos no se observaron bien definidos. En los embebidos en SSM se aprecia mejor el color de la prueba histoquímica para proteínas que los embebidos en AD.

Cocción con horno de microondas (P, Q).

En el remojo con AD la coloración es más tenue a diferencia de la coloración con el remojo en SSM, en donde se observa tanto el azul como el magenta sumamente intenso. Al igual que con el cocinador Mattson (Ñ y O) los cuerpos proteicos no se aprecian, solo se observa la coloración (azul) característica para proteínas. Los almidones se observaron con la morfología característica de la gelatinización por el tratamiento térmico. Las paredes celulares en ambas

fotomicrografías, la tinción fue más intensa con el remojo en SSM a diferencia de AD en donde se observa más tenue, los espacios intercelulares más evidentes que en AD.

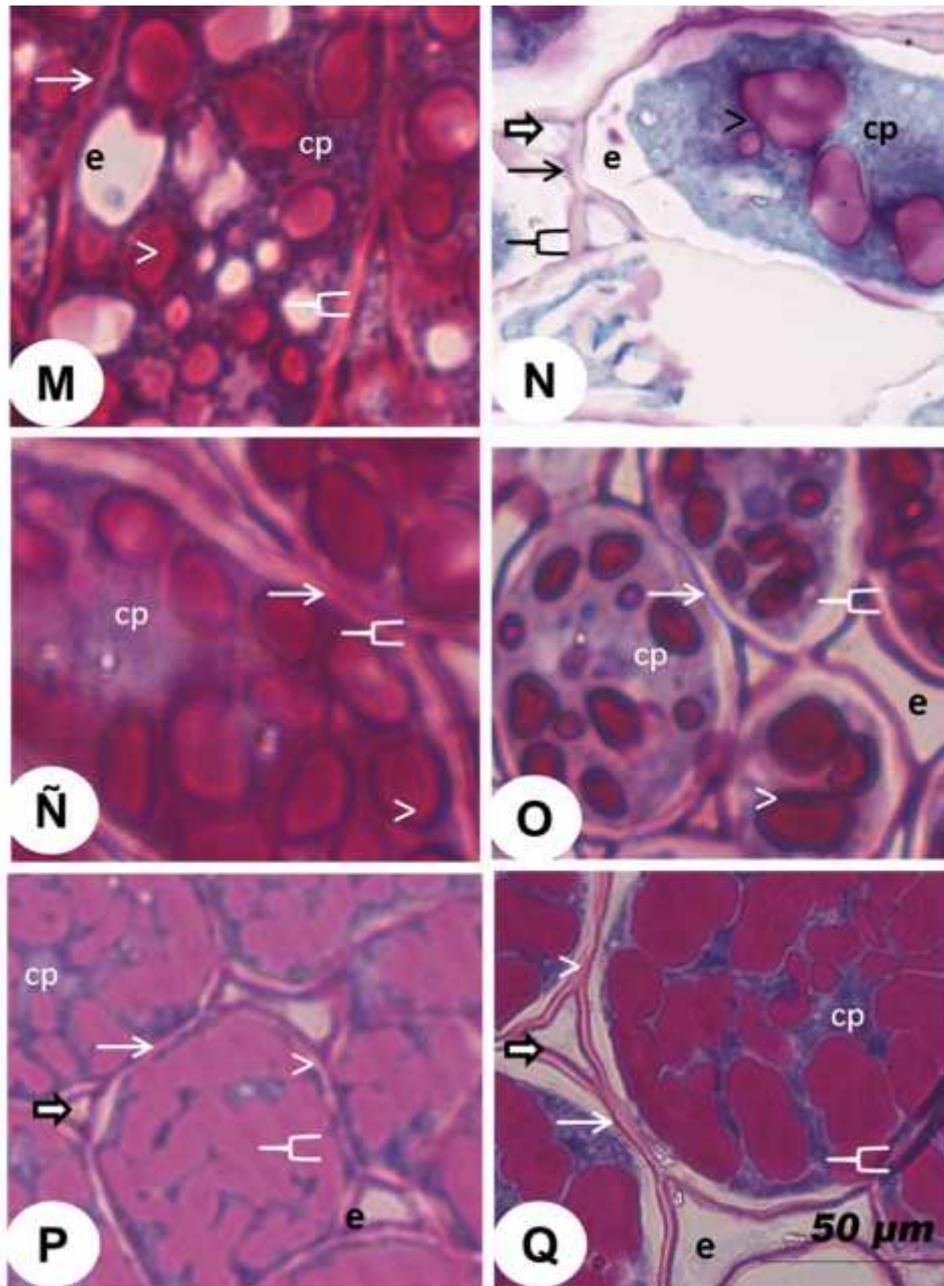


Figura 16. Prueba histoquímica: PAS+ANN, para la observación específica de cuerpos proteicos y polisacáridos insolubles en células cotiledonarias de *Cicer arietinum* L. cultivar blanco S 92. Las de la izquierda fueron embebidas en agua destilada (M, N̄, P), las de la derecha embebidas en SSM (N, O, Q). M y N sin cocción; N̄ y O cocinadas en C. Mattson; P y Q cocinadas en horno de microondas.

Pared celular —┐, Espacios intercelulares e, Polisacáridos insolubles >
 Cuerpos proteicos cp, Lámina media →, Esquinas ⇨

VI. DISCUSIÓN

Remojo y cocción

En la preparación de los garbanzos para su consumo, es necesario someterlos a Imbibición previa a la cocción con el propósito de reblandecerlos debido a que estas semillas por su propia naturaleza son duras para su cocción. Los cotiledones son la parte más importante en el consumo de las semillas porque su cochura (término que se utiliza para decir que ya está cocido el alimento), su textura y palatabilidad son parámetros que nos indican su calidad. (Stanley y Aguilera, 1984). Nuestros experimentos fueron hechos para investigar los cambios microestructurales en los cotiledones a nivel de microscopía óptica remojados con solución reblandecedora, la solución salina modificada (SSM), para posteriormente cocinarlos en horno de microondas y determinar los cambios microestructurales y si existe una potencialización en la reducción de los tiempos de cocción. La literatura en su mayoría reporta estudios a nivel de microscopía electrónica de barrido del cotiledón o utilizando harina de garbanzo (Xu *et al.*, 2014); pero no de cortes histológicos debido a la gran dificultad para obtenerlos por tratarse de un tejido duro debido a que se somete a desecación previa al almacenamiento antes de su consumo, lo que dificulta su procesamiento para la obtención de cortes histológicos.

Remojo de los garbanzos en Agua destilada y solución salina modificada con cocción

a) En cocinador Mattson

Nuestros resultados con remojo en agua destilada mostraron la cocción a los 66.75 minutos y difieren un poco a los obtenidos por Marconi, 2000, quien realizó su estudio en olla abierta y reporto una cocción de 110 minutos con previo remojo en agua destilada durante 18 horas. Kiang (2013) realizó su estudio utilizando agua corriente para el remojo previo a la cocción durante 24 horas y encontró una cocción de 90 minutos.

En solución salina, se observó que hubo una reducción en el tiempo de cocción a 43.95 minutos, lo cual coincide con los resultados de Garduño, 2003, quien encontró que el remojo en SSM es lento y el reblandecimiento inicia desde que son sumergidas las semillas en esta solución. Analizando estos resultados probablemente el remojo en agua destilada es más rápido pero el proceso de reblandecimiento es incompleto, pues el agua no alcanza a penetrar todas las capas de la semilla, para obtener una buena cocción, esto se puede apreciar en la fig. 15 de incremento de peso (g) de los garbanzos contra el tiempo (h) para ambos remojos.

b) En horno de microondas

En agua destilada la cocción fue de 13 min. Lo cual se acerca a los resultados obtenidos con Xu (2014) quien reportó una cocción de 15 minutos, mientras que Marconi (2000) reportó 11 minutos, esto probablemente debido al tipo de cultivar. Al comparar el remojo en agua destilada contra el remojo en solución salina, se

observó una reducción importante (3.5 min) en el tiempo de cocción al utilizar solución salina.

Microestructura

Con remojo y sin cocción

En el remojo con agua destilada las paredes celulares se observan bien delimitadas, no así en SSM donde las paredes celulares apenas si se perciben porque no hay continuidad que delimite bien una célula de otra debido a que en algunas partes desaparece la lámina media, pues las sales disueltas en el agua de remojo afectaron la estructura de la pared celular. Rockland y Metzler (1967), reportaron que en el remojo con sales de sodio los iones de sodio (monovalentes) sustituyen a los iones de Ca (divalentes) que se encuentran en las paredes celulares, esto produce desestabilización y por lo tanto reblandecimiento. Las sales también afectan a los cuerpos proteicos y a los gránulos de almidón en su morfología y distribución lo cual concuerda con lo encontrado por Monroy (2006).

Los gránulos de almidón se observaron ovalados, lo que concuerda con Garduño (2003), quien realizó un estudio en otro cultivar de garbanzo de la misma zona geográfica y observó que las formas de estos son esféricas u ovalados.

Los polifenoles se localizaron rodeando los gránulos de almidón, pues se ha demostrado que estos están asociados a vesículas que contienen fenoles, lo cual ha sido reportado en estudios anteriores por Esquivel *et al.* (1992).

También se observaron en las paredes celulares y adheridos a los cuerpos proteicos. Estos fueron más evidentes en el remojo con agua destilada que en el remojo con SSM.

En los cuerpos proteicos sucedió algo semejante, en el remojo con agua destilada, estos se aprecian mejor, lo cual coincide con los resultados obtenidos por Hentges *et al.*, (1990) los que observaron que los polifenoles son removidos hacia el agua de remojo y hacia los cotiledones, haciendo uniones o entrecruzamiento con las proteínas formando una especie de malla o red que impide el paso del agua y entonces los componentes celulares no se reblandecen provocando que el tiempo de cocción sea mayor.

Cocción en Cocinador Mattson y cocción en horno de microondas.

En nuestro estudio **las paredes celulares** de células de cotiledones cuyo remojo fue en SSM y cocción en Mattson se observaron ligeramente rotas, debido probablemente a la desestabilización de las paredes celulares como lo mencionaron Rockland y Metzler (1967), por la sustitución de los iones divalentes de la pared celular (calcio y magnesio) por los iones monovalentes de la solución salina (sodio); en cambio en los garbanzos cocinados con el horno de microondas, en ambos remojos, las paredes celulares desaparecieron probablemente debido a la sinergia de la solución reblandecedora y al método de cocción.

En nuestro estudio los **Gránulos de almidón** previo remojo en agua destilada y cocinados en Mattson se observaron opacos y perdieron su estructura cristalina de acuerdo con Hernández *et al.* (2008).

En ambos remojos y métodos de cocción se observaron las características de gelatinización, pues los gránulos de almidón coalescen unos con otros, lo que concuerda con los resultados encontrados por Stanley y aguilera (1984) y Hernández *et al.* (2016), los últimos investigadores mencionaron que esto es debido a que absorben gran cantidad de agua, provocando el hinchamiento y un aumento en su volumen, porque el orden molecular dentro de los gránulos es destruido gradual e irreversiblemente, por esto la temperatura de gelatinización es característica para cada tipo de almidón. Eerlinger y Delcour, 1995 lo relacionaron con la solubilización de algunas moléculas, particularmente la amilosa, que se difunde en el agua, y si el calentamiento continúa, se rompen y se observa una solubilidad parcial. Fig.14

Los **polifenoles** se localizaron rodeando los gránulos de almidón, pues se ha demostrado que están asociados a vesículas que contienen fenoles, lo cual ha sido reportado en estudios anteriores por Esquivel et al, 1992 y Hentges *et al.* (1990) mencionan que los polifenoles son removidos hacia el agua de remojo y hacia los gránulos de almidón, haciendo uniones o entrecruzamiento con las proteínas formando una especie de malla o red que impide el paso del agua y entonces los componentes celulares no se reblandecen provocando que el tiempo de cocción sea mayor. Estos fueron más evidentes en el remojo con agua destilada y en la cocción con horno de microondas. Esta observación no ha sido reportada en estudios anteriores, sin embargo, creemos que se debe a su relación con los cuerpos proteicos pues la SSM reblandece las células cotiledonarias y esto modifica toda la microestructura interna de las células, Fig. 15.

En el caso de los **cuerpos proteicos**, estos perdieron su integridad, pues la bibliografía reporta que son orgánulos pequeños más o menos esféricos (Pernollet, 1978). Lo cual coincide con Lupano (2013) y Lehninger (1978), quienes mencionan que por efecto del calor hay una desnaturalización de las proteínas, en donde se pasa de un estado ordenado a uno desordenado, esto debido posiblemente al desplegamiento de la estructura proteica. Las proteínas se observan concentradas en ciertas regiones celulares, sin embargo, se aprecian mejor con el remojo con SSM que en las de agua destilada. Fig. 16

VII. CONCLUSIONES

-) La hidratación de las semillas fue mejor en remojo en agua destilada que en solución salina.
-) La microestructura se vio afectada en ambos remojos (Agua destilada y SSM).
-) Las pruebas histoquímicas mostraron un mayor impacto sobre la microestructura de los almidones en la cocción con el horno de microondas.
-) La cocción con horno de microondas en la prueba histoquímica para polifenoles mostró que fue más intensa en el remojo con agua destilada y se conservaron en la zona en donde se encontraban los cuerpos proteicos.
-) En las pruebas histoquímicas para polisacáridos insolubles y proteínas, los cambios en la microestructura en paredes celulares y almidones mostraron que se conservaron mejor en los garbanzos cocinados en horno de microondas previamente remojados con SSM.

-) Hubo una considerable reducción en el tiempo de cocción con el horno de microondas con respecto a la cocción con el cocinador Mattson en ambos remojos.
-) La cocción con el horno de microondas y el remojo en SSM si potencializan la cocción de los garbanzos.

VII.1 propuestas para estudios futuros

-) Hacer una cuantificación de nutrientes utilizando SSM como solución reblandecedora y cocción en horno de microondas, para observar el impacto real en la calidad nutricional del garbanzo.
-) Hacer un estudio comparativo de las características fisicoquímicas de almidones de leguminosas para determinar si estas no cambian y afectan el índice glicémico después de la cocción con microondas.
-) Hacer pruebas de palatabilidad comparando garbanzos cocinados con métodos tradicionales y los cocinados en horno de microondas para determinar su aceptación en el consumidor.

VIII. BIBLIOGRAFIA

1. Anderson, R., Rackis, J. and Tallent, W. 1979. Biologically active substances in soy products. In: Soy Protein and Human Nutrition. Wilckae, H., Hopkins, D. and Waggle D., Eds. Academic Press, New York.
2. Bressani R. and Alians, L. 1974. Nutritional value of legume crops for humans and animals. En; Advances in legume Science. Royal Botanic Gardens. London. p. 135-155.
3. Brett C., and J.R. Hillman. 1985. Biochemistry of plant cell walls. Cambridge University Press. London. p. 110-113
4. Burke, M. 1986. The glass state survival of the anhydrous biological systems. In: C. Leopold (Ed). "Membranes, metabolism and dry organism" Ithaca; Cornell University Press. 358-363.
5. 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.
6. Clemente, A., Sánchez –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
7. 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 Indian diets based on ragi.

- kaffir corn and Pearl Milletw. Indian Journal Nutrition Diet., 5, 283.
8. 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.
9. De Miguel, G. 1991. El garbanzo una alternativa para el secado. Ed. MUNDI PRENSA.134
10. Decareau., 1985. El garbanzo., una alternativa para el secado. Ed. MUNDI PRENSA.134
11. Dufour C, Loonis M. 2007. Flavonoids and their oxidation products protect efficiently albumin-bound linoleic acid in a model of plasma oxidation. Biochim Biophysics Act; 1770: 958-965.
12. Duke, J.A. 1981. Handbook of legumes of world economic importance. Plenum Press, New York. p.52-53
13. Eerlingen, R. C.; Delcour, J. A. 1995 Formation, analysis, structure and properties of type III enzyme resistant starch. Journal of Cereal Science, v. 22, n. 2. p. 129-138.
14. Esquivel, H.C.F., Garduño, J.J, Serrano y Márquez G.J.2002. El remojo usando dos soluciones en relación con los tiempos de cocción y los cambios en la ultraestructura del cotiledón del cultivar "Tubutama" *Cicer arietinum* L. VIII Congreso Latinoamericano de Botánica; II Congreso Colombiano de Botánica.13-18 de octubre. Resúmenes. p.97

15. Esquivel C., López, J. Márquez and Bernal Lugo. 1992. Chemical composition and structure of two Mexican bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars in relation to cooking time. *Phyton*. 53: 143-153.
16. Esquivel, H. C., Tovar M. E. y Márquez-Guzmán, J. 1994. Análisis Estructural de la Reversión del Fenómeno del Endurecimiento en *Phaseolus vulgaris* L. VI Congreso Latinoamericano de Botánica. Mar de Plata, Argentina
17. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 1982. Food and nutrition paper. Legumes in human nutrition. Vol.20:30.
18. Garduño Aguirre, F. 2003. 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 de Licenciatura Facultad de Ciencias, UNAM
19. Geervani, P. 1991. Utilization of chickpea in India and scope for novel and alternative Uses. In: Uses of tropical grain legumes: Proceeding of consultants Meeting, 27-30 March, 1989 ICRISAT Center, Patancheru, Andhra Pradesh, India; p.47-54
20. Morales *et al.* 2004. Historia de la Paleontología madrileña. En <Patrimonio Paleontológico de comunidad de Madrid> Eds. J. Morales, M. Nieto, Amezcua, S. Fraile, E. Herráez, P. Pelaez-Campomanes, M.J. Salesa, I.M. Sánchez, D. Soria, *Arqueología, Paleontología y etnografía*, 6, 200; p.9-34.

21. González de la Concha S. 1994. Efecto del deterioro en los niveles de biomoléculas que participan en la protección del estado seco de la semilla de *Phaseolus vulgaris*. Tesis de Maestría. Fac. Ciencias. UNAM
22. Hall, J., T. Flowers and R. Roberts. 1984. Plant cell structure and metabolism. Longman. New York.
23. Hamad, N. and Powers, J. 1965. Imbibition and pectin content of canned dry-line beans Food Technol. 19; p.648
24. Hentges D., Waver C., and S. Nielsen 1990. Reversibility of the hard-to-cook defect in dry beans (*Phaseolus vulgaris*) and cowpeas (*vigna uniuiculata*). Journal of science. 55: 1474-1476.
25. Hernández M. *et al.* 2008. Caracterización fisicoquímica de almidones de tubérculos cultivados en Yucatán, Cienc. Technolog. Aliment México; p,1-9
26. Hsu, K.; Kun, C. and Wilson, L. 1983 factors affecting water uptake of soybeans during soaking. Cereal Chemistry; p. 208-211.
27. 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. in Expanding the Production and Use of Cool Season Food Legumes. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, the Netherlands; p.53-76.
28. Hall J.L. C. Hawess, 1991. Electron microscopy of plant cells. Academic Press, London

29. Javier Alejandro Parada S. (1) y Jaime Rozowski N. (2) 2008. Relación entre la respuesta glicémica del almidón y su estado microestructural. (1) Laboratorio de Biomateriales, Departamento de Ingeniería Química y Bioprocesos, Facultad de Ingeniería, Pontificia Universidad Católica de Chile. (2) Departamento de Nutrición, Diabetes y Metabolismo, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile
30. Johansen, D.A. 1940. Plant Microtechnique.,3. Mc Graw Hill Book Co. Inc.New York.
31. Ganesh K. *et al.*1978. The action of test FMC pea tenderometer was analyzed by direct observation. Institute of Science and Technology Journal. Ontario Canada; Vol. 10.No. 10; p.97-98
32. Karp G. 1993. Biología Celular. McGraw-Hill. México
33. Khatoon. N., Prakash., J.,2004. Nutritional quality of microwave-cooked and pressure-cooked legumes. International Journal of Food Sciences and Nutrition 55; p.441-448.
34. Khokhar, S.and Chanan, B. 1986. Antinutritional factors in moth bean (*Vigna aconitifolia*): varietal differences and effects of methods of domestic processing and cooking Journal of Science.51(3); p.591-594.
35. Kosson, R.; Czuchajowska, Z.; and Pomeranz, Y. 1994. Smooth and Wrinkled peas. General. Physical and Chemical Characteristic. Journal agricultural and Food Chemistry. 42; p.91-95.

36. Lehninger, A.L. 1978. Proteínas: esqueleto covalente y secuencia aminoácida. En Bioquímica, 2da edición, cap. 5, Ediciones Omega, Barcelona. P. 97-125.
37. López-Curto, M.; Márquez, J. Y Murgía, G. 1998. Técnicas para el estudio del desarrollo en angiospermas (Libro de laboratorio). Las prensas de Ciencias, UNAM; p, 95-98.
38. Lupano, Cecilia Elena. 2013. Modificaciones de componentes de los alimentos: cambios químicos y bioquímicos por procesamiento y almacenamiento. 1ª. ed. - La Plata: Universidad Nacional de La Plata, 201; p. 12-13.
39. 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); p. 5986-5994.
40. Mattson, S. 1946. the cookability of yellow peas. Acta. Agric. Scand. 1:185.
41. Mayer, A. and Poljakof-Mayber 1975 "The germination of seeds". 2a. Ed. Peergamon Press. Oxford. México, 24 de octubre de 1998.
42. Monrroy Salazar F. 2006. Garbanzo "Variación de la fuerza de punción en las semillas de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) imbibidas con una solución reblandecedora y su efecto en la birefringencia y microestructura de los cuerpos almidonosos" Tesis de Licenciatura en Física. Facultad de Ciencias UNAM,

43. Morris, H. and Wood, E. 1956. Influence of moisture content on keeping quality of dry beans. Food Technology. 10(5); p, 225.
44. Mudgett, R.E. 1995. Dielectric properties of foods. In Microwaves in the food processing industry; Ed., Academic Pres: Orlando p.15-37
45. Muelhbauer, F., and Sing, K. 1987. Genetics of Chickpea. P.99-125. in: The Chickpea. CAB. International, Wallingford, Oxon, OX10 8DE, UK.
46. Müntz. K. 1982. Nucleic acids and Proteins In plants I structure, biochemistry and physiology of proteins. Encyclopedia of plant Physiology. New Series. Vol. 14 A. Sringer-Verlang. New York.
47. Muzquiz, M. y Wood, J.A. 2007. Antinutritional Factors. En: S.S. Yadav, R. Redden, W. Chen y B. Sharma. Eds. Breeding and Management. CAB International; p.143-166.
48. Noguez Ortiz S. 2011. Cambios morfológicos en las inclusiones de polifenoles de la testa de *phaseolus vulgaris* durante el endurecimiento y su reversión. Tesis de Licenciatura, Facultad de ciencias, UNAM.
49. Otto, T.; Baik, B.K.; and Czuchajowska, Z. 1997. Microstructure of seeds, flours and Starches of legumes. Cereal Chemistry. 74; p.445-451.
50. Pernollet J. 1978. Protein bodies of seeds: Ultrastructure, Biochemistry, biosynthesis and degradation. Phytochemistry. 17: 1473-1480.

51. Powers, J. 1961. Gelation of canned peas and pinto beans as in influence by processing condition, starch and pectin content. Food Technology. 15:41.
52. Rajko.R., Szabo, G., Vidal-Valverde. C., Kovacs, E., 1997. Designed experiments for reducing antinutritive agents in soybean by microwave energy. Journal of agricultural and Food Chemistry 45; p.3565-3569.
53. 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.
54. Reyes Moreno, *et al.* 2002. Descascarillado/suavización/extrusión (DSE): alternativa tecnológica para mejorar la calidad nutricional del garbanzo (*Cicer arietinum* L.) Agrociencia, vol. 36, núm. 2, marzo-abril; p.181-189 Colegio de Postgraduados.
55. Ricco, R.A., Vai, V.M., Sena, G.A., Wagner, M.L. y Gruñi, A.A. 2003. Taninos condensados de *Ephedra ochreatea* Miers (*Ephedraceae*). Acta farm. Bonaerense. 22(1): 33-37.
56. Rockland B. L. and Eugene A. Metzler. 1967. Los cambios en la estructura del cotiledón del Quick-Cooking Lima and Other Dry Beans. Food Technology. 21; p.344-347.
57. Rockland, L. 1972. Quick-cooking soy beans products. U.S. Patent. No. 3,635,728.

58. 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.
59. Rockland. L. Zaragoza, E. and Oracca-Tetteh, R.1979.Quick-cooking winged beans (*Psophocarpus tetragonolobus*). Journal of Food Science. Vol.44; p.1004-1007.
60. Rodríguez Mireles A, 1998. Evaluación del uso del hidróxido de sodio(NaOH) e hidróxido de Calcio Ca(OH)₂ con diferente grado de pureza química, para la obtención de concentrados proteicos de garbanzo (*Cicer arietinum* L). TESIS PROFESIONAL. Chapingo, México.
61. Saleh A. Alajaji, Tarek A. El-Adawy. 2006. Nutritional composition of chickpea (*Cicer arietinum* L.) as affected by microwave cooking and other traditional cooking method. Food Process Technology.19; p. 806-811.
62. Sanchez, A., Register, U.D. 1981. Blakenship., J.W., Hunter, C.C. Effect of microwave heating of soybeans on protein quality. Arch. Latinoam. Nutr. 31; p.45-51.
63. Sangronis, E. *et al*, 2002. Efecto de la alta presión hidrostática (APH) en la imbibición de agua, tiempos de cocción y microestructura del *Phaseolus Vulgaris*. Arch. Latinoam Nutr; p. 301-306.
64. Santino A, G. Daminati, A. Vitale, and R. Bollini.1992. The alfa-amilasa inhibitor of bean seed: two step proteolytic maturation

in the protein storage vacuoles of the developing cotyledon.

Physiologic plantarum 85: p.425-432.

65. Sastry, C.S.T. and Kavathekar, K.Y. 1990. Plants for reclamation of wastelands. New Delhi, India: Council of Scientific and Industrial Research; p.684.
66. Sefa-Dedeh, S. and Stanley, D. 1979(1) The relation of microstructure of cowpeas to water absorption. Cereal Foods World. 21:168.
67. Sefa-Dedeh, S. and Stanley, D. 1979 (2) Textural implications of the microstructure of legumes. Food Technology. October.
68. Sefa-Dedeh, S. and Stanley, D. 1979 (3) Microstructure of cowpea variety adua ayera. *Cereal Chemistry*. Vol.56; No.4
69. Serrano Arellano, J. La ultraestructura del cotiledón de *Cicer arietinum* L.(garbanzo), después del remojo en agua alotropizada y solución salina. TESIS de Licenciatura facultad de Ciencias, UNAM. 2003.
70. Singh, K.B. 1997. Chickpea (*Cicer arietinum* L.). Fields Crops Research. 53; p.161-170.
71. 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; p.135-142.
72. Siddappa, G.S., 1959. Canning of dried Bengal gram., (*Cicer arietinum*), Indian J.Hort., 16, p.170

73. Snyder. 1936. Some factors affecting the cooking quality of the pea seeds and Great Northern types of dry beans. Nebraska Agriculture Experimental St. Bulletin. No. 85.
74. Stanley, D. and Aguilera, J. 1985. A review of textural defects in cooked reconstituted legumes- influence of structure and composition. Journal of Food Biochemistry. Vol. 9; p.277-323.
75. Taiwo, K.; Akabanki, C. and Ajibola, O.1997. The effects of soaking time on the cooking properties of two cowpea varieties. Journal of the Food Engineering 33; p.337-346.
76. 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.
77. Tovar, M. 1997. 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.
78. 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.
79. Van der Maesen, L.J.1987. *Cicer* L. Origen, history and taxonomy of chickpea. In: The Chickpea. C.A.B. International Cambrian News Ltd, Aberystwyth, Uk. p.11-34
80. Warner, P.K.W., Nambiar, V.P.K., and Remankutty, C.1995. Indian medicinal plants. Chennai, India: Orient Longman; p.773

81. Wood. J.A y Grusak, M.A.2007. Nutritional value of chickpea.
En: S.S. Yadav, R. Redden, W, Chen y B. Sharma (Eds).
Chickpea Breeding and Management.CAB International; p.121-122.
82. Xu, Y.M., Thomas & Harbans L., Bhardwaj .2014. Chemical composition, functional properties and microstructural characteristics of three Kabuli chickpeas (*Cicer arietinum* L.) as affected by different cooking methods. International Journal of Food science & Technology; p.1215-1223.