



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS PUEBLA

POSTGRADO EN ESTRATEGIAS PARA EL DESARROLLO AGRÍCOLA REGIONAL

**CARACTERIZACIÓN DE ALMIDÓN NATIVO DE CULTIVARES DE
HABA (*Vicia faba* L.) PROVENIENTES DE LOS PRINCIPALES ESTADOS
PRODUCTORES DE MÉXICO.**

GISELA SALAMANCA BAUTISTA

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS

PUEBLA, PUEBLA

2017



COLEGIO DE POSTGRADUADOS
INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS
CAMPECHE-CÓRDOBA-MONTECILLO-PUEBLA-SAN LUIS POTOSÍ-TABASCO-VERACRUZ

SUBDIRECCIÓN DE EDUCACIÓN
CAMPUS PUEBLA

CAMPUE- 43-2-03

**CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR
Y DE LAS REGALÍAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACIÓN**

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, la que suscribe **Gisela Salamanca Bautista**, alumna de esta Institución, estoy de acuerdo en ser partícipe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta Institución, bajo la dirección del Profesor **Dra. Adriana Delgado Alvarado**, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis **Caracterización de almidón nativo de cultivares de haba (*Vicia faba* L.) provenientes de los principales estados productores de México**, y de los productos de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre del Colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, el Consejero o Director de Tesis y la que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Puebla, Puebla, a 8 de noviembre del 2017.



Gisela Salamanca Bautista



Vo. Bo. Profesora Consejera
Dra. Adriana Delgado Alvarado

La presente tesis, titulada: **Caracterización de almidón nativo de cultivares de haba (*Vicia faba* L.) provenientes de los principales estados productores de México**, realizada por la alumna: **Gisela Salamanca Bautista**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS

ESTRATEGIAS PARA EL DESARROLLO AGRÍCOLA REGIONAL

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERA:



DRA. ADRIANA DELGADO ALVARADO

ASESOR:



DR. BRAULIO ÉDGAR HERRERA CABRERA

ASESOR:



DR. F. VÍCTOR CONDE MARTÍNEZ

ASESORA:



DRA. MA. DEL CARMEN MENDOZA CASTILLO

Puebla, Puebla, México, 6 de noviembre de 2017

CARACTERIZACIÓN DE ALMIDÓN NATIVO DE CULTIVARES DE HABA (*Vicia faba* L.)
PROVENIENTES DE LOS PRINCIPALES ESTADOS PRODUCTORES DE MÉXICO.

Gisela Salamanca Bautista, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2017

El haba (*Vicia faba* L.) es una de las especies de leguminosas más importantes en el mundo, actualmente destaca también por su contenido de almidón. Esta investigación tuvo como objetivo analizar las características del grano, extraer su almidón y analizarlo físicoquímica y funcionalmente en diferentes cultivares de haba de poblaciones de las zonas productoras más importantes de México. El análisis se realizó con 19 colectas de cinco cultivares cosechados en tres localidades del estado de Puebla. En cuanto a caracteres del grano se tuvo diferencia significativa entre colectas con un rango entre 20 y 27 mm de largo. Sólo el grosor del grano presentó una correlación inversa ($r=-0.46^*$) con el contenido de amilosa. En la extracción del almidón se obtuvo rendimientos entre 28.7% y 43.7% en materia seca (ms). En el análisis proximal del almidón, el contenido de cenizas, lípidos, azúcares solubles, y nitrógeno total no tuvieron diferencias relevantes entre colectas y estuvieron dentro de los estándares de calidad para un almidón comercial. En sus propiedades químicas, el contenido de amilosa tuvo diferencia significativa en función del ambiente. El contenido de almidón total estuvo en el rango entre 77.5% y 100% ms, el almidón resistente varió entre 3.3% y 7.4% ms. El índice de absorción de agua se encontró entre 10 y 13.6 (g gel/g de muestra), el poder de hinchamiento entre 12.6 y 15.7 (g agua/g de almidón), y el índice de solubilidad en agua entre 12% y 17%, todos evaluados a 80°C. El color del almidón tuvo un índice de blancura entre 91.7 y 94.4, la variación de color (ΔE) fluctuó entre 1.96 y 5.13. La morfología de los gránulos incluyó formas ovaladas o irregulares en el tamaño grande, y esféricas en gránulos pequeños, con dimensiones del lado más largo entre 5 y 50 μm . En conclusión, el rendimiento del almidón no tuvo una correlación significativa con las dimensiones del grano de los cultivares analizados, físicamente su almidón tuvo una blancura comercial aceptable, con características químicas destacadas y funcionalmente opaco. Estos resultados aportan conocimiento sobre características de selección de cultivares de haba para obtener los mejores rendimientos de almidón.

Palabras clave: almidón, almidón opaco, amilosa, gránulos, *Vicia faba* L.

NATIVE STARCH FABIA BEAN (*Vicia faba* L.) CHARACTERIZATION FROM CULTIVARS FROM PRINCIPAL PRODUCER ZONES OF MÉXICO.

Gisela Salamanca Bautista, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2017

Faba bean (*Vicia faba* L.) is one of the most important legume species in the world, currently also notable for its starch content. This research aimed to analyze the characteristics of the grain, extracting its starch and analyzing it physicochemical and functionally in different faba bean cultivars of populations from the most important producing areas of Mexico. The analysis was carried out in 19 collects of five cultivars harvested in three localities of the state of Puebla. As for grain characters, there was a significant difference between collections with a range between 20 and 27 mm in length. Only grain thickness provided an inverse correlation ($r = -0.46 *$) with amylose content. In the starch extraction, yields were obtained between 28.7% and 43.7% in dry matter (dw). In the proximal analysis of the starch, the content of ash, lipids, soluble sugars, and total nitrogen had no relevant differences between collections and were within the quality standards for a commercial starch. In chemical properties, the amylose content had significant difference depending on the environment. Total starch content ranged from 77.5% to 100% dw, resistant starch varied between 3.3% and 7.4% dw. The water absorption index was between 10 and 13.6 (g gel / g sample), the swelling power between 12.6 and 15.7 (g water / g starch), and the solubility index in water between 12% and 17%, all evaluated at 80 °C. The starch color had a whiteness index between 91.7 and 94.4, the color variation (ΔE) ranged between 1.96 and 5.13. The morphology of the granules included oval or irregular shapes in the large ones, and spherical in the small ones, with dimensions of the longest side between 5 and 50 μ m. In conclusion, the starch yield did not correlate significantly with the grain size of the cultivars analyzed, physically the starch had an acceptable commercial whiteness, with outstanding chemical characteristics and functionally opaque. These results provide knowledge on selection characteristics of faba bean cultivars to obtain the best yields of starch

Key words: amylose, granules, opaque starch, starch, *Vicia faba* L.

AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS

Agradezco a Dios por brindarme la fortaleza y perseverancia para cumplir con ésta meta en mi vida.

Agradezco a CONACYT, al Colegio de Postgraduados Campus Puebla, y a mi asesora Dra. Adriana Delgado Alvarado por contar con su valiosa dirección para la realización de éste trabajo de investigación.

Agradezco y valoro todos conocimientos y experiencias que adquirí en esta etapa, los cuales fortalecieron y definieron elementos para mi desarrollo personal y profesional.

Agradezco a las personas que me brindaron soporte técnico en el Laboratorio de Bioquímica Vegetal del Colegio de Postgraduados, Puebla. En particular a personas que colaboraron conmigo en las extracciones de almidón, en la medición de propiedades funcionales, y de color. También a la Dra. Angelina Patricia Ramírez Carrasco por su apoyo siempre cordial y amistoso.

Agradezco al soporte que me brindó el Colegio de Postgraduados campus Montecillos para los estudios de microscopía electrónica de barrido, en particular a la M.C. Greta Hanako Rosas-Saito, que por su gran profesionalismo y experiencia fue posible la obtención de las microimágenes de los almidones extraídos.

Dedico éste logro a mis dos hijos Giselle y Johan, razones que impulsan mi vida.

También lo dedico a mi madre, ejemplo de fortaleza, y a la que debo mucho de las cosas más valiosas y positivas que he aprendido de la vida.

CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Justificación del trabajo	3
1.2 Planteamiento del problema	4
1.3 Objetivos.....	5
1.4 Hipótesis	6
II. REVISIÓN LITERARIA	6
2.1 Características del cultivo de haba	6
2.1.1 Composición química y valor nutritivo del grano seco.....	7
2.1.2 Variedades botánicas y cultivares	11
2.1.3 Importancia del cultivo en la economía de México.....	12
2.2 Marco geográfico del origen del material vegetal	15
2.3 Condiciones climáticas durante el desarrollo de los granos	21
2.4 Almidón.....	25
2.4.1 Fuentes globales de almidón	25
2.4.2 Potencial de las fracciones obtenidas de la extracción de almidón	27
2.4.4 Usos y comparación de almidones de varias fuentes	28
2.4.5 Estudios realizados con almidón de leguminosas en animales	31
2.4.6 Biosíntesis de almidón en plantas superiores	32
2.4.6.1 Síntesis de almidón transitorio y de sacarosa.....	33
2.4.6.2 Almidón de reserva a largo plazo en semilla	34
2.4.6.3 Bioquímica del almidón en semilla.....	35

2.4.6.4	Gránulos de almidón	41
2.4.7	Propiedades químicas	42
2.4.7.1	Almidón total.....	42
2.4.7.2	Almidón resistente.....	44
2.4.7.3	Amilosa y amilopectina.....	45
2.4.8	Análisis proximales	49
2.4.9	pH del almidón	50
2.4.10	Propiedades funcionales	50
2.4.10.1	Claridad de pasta	52
2.4.10.2	Índices de solubilidad, absorción de agua, y poder de hinchamiento	52
2.4.11	Propiedades físicas	53
2.4.11.1	Color.....	53
2.4.11.2	Morfología de gránulos	54
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	56
3.1	Material vegetal	56
3.2	Caracterización de ambientes	57
3.3	Determinación de condiciones climáticas en tiempo real de los sitios de cultivo	58
3.4	Caracterización morfológica de granos	59
3.5	Extracción de almidón y rendimiento.....	60
3.6	Propiedades químicas del almidón	62
3.6.1	Almidón total.....	62
3.6.2	Almidón resistente.....	63

3.6.3	Amilosa y amilopectina.....	64
3.7	Análisis proximales	66
3.7.1	Determinación de humedad.....	66
3.7.2	Determinación de cenizas.....	66
3.7.3	Determinación de azúcares solubles totales	67
3.7.4	Determinación de proteína total	67
3.7.5	Determinación de lípidos.....	68
3.8	Medición de pH	69
3.9	Propiedades funcionales	69
3.9.1	Determinación de claridad.....	69
3.9.2	Índices de absorción de agua (IAA), solubilidad (ISA) y poder de Hinchamiento (P_Hin)	70
3.10	Propiedades físicas	70
3.10.1	Medición de color.....	70
3.10.2	Morfología de gránulos de almidón	71
3.11	Análisis estadístico	73
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	74
4.1	Caracterización de ambientes del sitio de cultivo	74
4.2	Caracteres del grano	75
4.3	Rendimiento de extracción de almidón a partir de la harina de haba.....	82
4.4	Contenido de almidón total y propiedades del almidón nativo de haba.....	86
4.4.1	Almidón total.....	86
4.4.2	Propiedades químicas	87

4.4.3	Análisis proximal y pH.....	97
4.4.4	Propiedades funcionales	101
4.4.5	Propiedades físicas	106
4.4.5.1	Color del almidón nativo de haba	106
4.4.5.2	Morfología de los gránulos nativos de almidón de haba.....	111
4.5	Correlaciones	114
4.6	Análisis de la distribución de la variación de 13 colectas de cinco cultivares cultivadas en Tlachichuca 2007 (22Cb, 93Ca, 146Cm, 160Cb, 281Ta, 288Ta), y San Cayetano 2011 (22Cb, 93Ca, 146Cm, 160Cb, 181, 281, 288)	117
V.	DISCUSIÓN GENERAL.....	121
VI.	CONCLUSIONES.....	127
VII.	LITERATURA CITADA	129
VIII.	ANEXOS.....	149

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 2.1 Composición química promedio de un grano seco de haba.	8
Cuadro 2.2 Aportes por ración de 100 g de grano seco de haba.	9
Cuadro 2.3 Producción anual de almidón por materia prima en la Unión Europea, Estados Unidos y otros países en el año 2000.	25
Cuadro 2.4 Algunas características de almidones de leguminosas comparadas con otros almidones.	30
Cuadro 2.5 Enzimas que participan en el metabolismo y síntesis del almidón.	38
Cuadro 2.6 Proporción de amilosa y amilopectina en almidones de varias especies.	47
Cuadro 2.7 Digestibilidad de alimentos con distintos tipos de almidones.	49
Cuadro 2.8 Composición proximal en almidones de distintas especies.	50
Cuadro 2.9 Tamaño y forma de los gránulos de almidón de varias especies.	56
Cuadro 3.1 Lista de colectas, cultivares, y diseño del experimento completamente al azar, para los análisis estadísticos en función de tres factores, ambiente, año de cosecha, y cultivar.	57
Cuadro 3.2 Estaciones meteorológicas utilizadas para calcular las variables climáticas del sitio de cultivo.	59
Cuadro 3.3 Clasificación de tamaños de gránulos nativos de almidón de haba.	73
Cuadro 4.1 Análisis de varianza para los caracteres del grano de haba, factor cultivar, realizado en siete colectas de cinco cultivares (22Cb, 93Ca, 146Cm, 160Ca, 181Tp, 281Ta, 288Ta) tanto en San Cayetano 2011, como en Tlachichuca 2007.	75

Cuadro 4.2 Análisis de varianza para los caracteres del grano de haba para el factor ambiente, realizado en dos cultivares (89Ta, 181Tp), en dos ambientes (Tlachichuca y Zoapan 2007).....	78
Cuadro 4.3 Análisis de varianza para los caracteres del grano de haba para el factor año de cosecha (2006, 2011, 2012) en el cultivar ‘Tarragona parraleña’ colecta 181.	81
Cuadro 4.4 Análisis de varianza para el rendimiento de extracción de almidón a partir de harina de granos sin testa, factor cultivar, se analizaron siete colectas de cinco cultivares (22Cb, 93Ca, 146Cm, 160Cb, 181Ta, 281Ta, 288Ta) en dos localidades, Tlachichuca 2007 y San Cayetano 2011.	82
Cuadro 4.5 Análisis de varianza para el rendimiento de extracción de almidón a partir de harina sin desengrasar de granos secos sin testa, factor ambiente (Zoapan y Tlachichuca 2007), en los cultivares 89Ta, 181Tp.	84
Cuadro 4.6 Análisis de varianza para el rendimiento de extracción de almidón a partir de harina sin desengrasar de granos secos sin testa, factor año de cosecha (2006, 2011, 2012), en el cultivar 181Tp.	85
Cuadro 4.7 Porcentajes de almidón total en el almidón nativo de haba en todos los cultivares...	87
Cuadro 4.8 Análisis de varianza de las propiedades químicas del almidón nativo de haba para el factor cultivar (cultivares 22Cb, 93Ca, 146Cm, 160Cb, 181Tp, 281Ta, 288Ta) en dos localidades (Tlachichuca 2007 y San Cayetano 2011).....	88
Cuadro 4.9 Análisis de varianza de las propiedades químicas del almidón nativo de haba para el factor ambiente, realizado en dos cultivares (89Ta, 181Tp), y dos ambientes (Zoapan y Tlachichuca 2007).	91
Cuadro 4.10 Análisis de varianza de las propiedades químicas del almidón nativo de haba para el factor año de cosecha, evaluado en un cultivar (181Tp) en tres años de cosecha (2006, 2011, y 2012), en San Cayetano, Puebla.	95

Cuadro 4.11 Análisis de varianza de las propiedades funcionales del almidón nativo de haba para el factor cultivar, realizado en seis colectas de cuatro cultivares en Tlachichuca 2007 (22Cb, 93Ca, 146Cm, 160Cb, 281, y 288), y siete colectas de cinco cultivares en San Cayetano 2011 (22Cb, 93Ca, 146Cm, 160Cb, 181Tp, 281Ta, 288Ta).	101
Cuadro 4.12 Análisis de varianza de los porcentajes de transmitancia de luz del almidón nativo de haba a diferentes horas de reposo para el factor ambiente, se analizaron dos cultivares (89Ta, y 181Tp) en dos ambientes (Tlachichuca y Zoapan 2007).	104
Cuadro 4.13 Análisis de varianza de la claridad del almidón nativo de haba a diferentes horas de reposo para el factor año de cosecha, analizado en un cultivar (181Tp), en la localidad de San Cayetano, en tres años distintos (2006, 2011, 2012).	105
Cuadro 4.14 Análisis de varianza de los índices de color del almidón nativo de haba para el factor cultivar, en siete colectas de cinco cultivares (22cb, 93Ca, 146Cm, 160Cb, 181Tp, 281Ta, 288Ta) en Tlachichuca 2007 y San Cayetano 2011.	107
Cuadro 4.15 Análisis de varianza de los índices de color del almidón nativo de haba para el factor ambiente realizado en dos cultivares (181Tp y 89Ta) y dos ambientes (Zoapan y Tlachichuca 2007).	109
Cuadro 4.16 Análisis de varianza de los índices de color del almidón nativo de haba para el factor año de cosecha, analizado sobre el cultivar ‘Tarragona Parraleña’ colecta 181. ..	110
Cuadro 4.17 Prueba de normalidad para las frecuencias del tamaño de gránulos nativos de haba.	112
Cuadro 4.18 Correlaciones con significancia entre variables de caracteres de grano de haba y variables químicas y funcionales del almidón.	115
Cuadro 4.19 Eigenvalores, y proporción acumulada de la variación explicada por cada variable, en las tres primeras dimensiones.	117
Cuadro 1A Condiciones climáticas durante la temporada de siembra (de marzo a noviembre) del 2007 en Tlachichuca y Zoapan para el análisis del factor ambiente.	149

Cuadro 2A Condiciones climáticas de la temporada de siembra (marzo a noviembre) de la localidad de San Cayetano en los años 2006, 2011, y 2012, para el análisis del factor año de cosecha.	150
Cuadro 3A Condiciones climáticas en la temporada de siembra (marzo a noviembre) en las localidades de Tlachichuca 2007, y San Cayetano 2011, para el análisis del factor cultivar.	151
Cuadro 4A Análisis de varianza de los análisis proximales sobre el almidón nativo de haba para el factor cultivar, en siete colectas de cinco cultivares (22Cb, 93Ca, 146Cm, 160Cb, 181Tp, 281Ta, 288Ta) tanto en Tlachichuca 2007, como en San Cayetano 2011.	152
Cuadro 5A Análisis de varianza de los análisis proximales sobre el almidón nativo de haba para el factor ambiente, en dos cultivares (89Ta y 181Tp) en dos ambientes (Tlachichuca 2007, Zoapan 2007).	152
Cuadro 6A Análisis de varianza de los análisis proximales sobre el almidón nativo de haba para el factor año de cosecha, en un cultivar (181Tp), una misma localidad (San Cayetano, Cd. Serdán), y tres años de cosecha (2006, 2011, 2012).	153
Cuadro 7A Contenidos de nitrógeno total en promedios de todos los cultivares utilizados en ésta investigación.	154
Cuadro 8A Cifras significativas de pruebas no paramétricas para las dimensiones de los gránulos de almidón, para el factor cultivar, en siete cultivares (22Cb, 93Ca, 146Cm, 160Cb, 181Tp, 281Ta, 288Ta) tanto en Tlachichuca 2007, como en San Cayetano 2011, Puebla.	155
Cuadro 9A Cifras significativas de pruebas no paramétricas para las dimensiones de los gránulos de almidón, en función del ambiente, realizado en dos cultivares (89Ta y 181Tp) y dos ambientes (Tlachichuca 2007 y Zoapan 2007).	156
Cuadro 10A Cifras significativas de pruebas no paramétricas para las dimensiones de los gránulos de almidón, en función del año de cosecha, en un cultivar (181Tp), en tres años de cosecha (2006, 2011, 2012), en San Cayetano, Cd. Serdán Puebla.	157

Cuadro 11A Promedios de dimensiones de los gránulos en todos los cultivares de habas.	158
Cuadro 12A Correlaciones con significancia entre variables de propiedades químicas del almidón y otras variables analizadas en laboratorio.	159
Cuadro 13A Correlaciones con significancia entre variables de análisis proximal del almidón y otras variables analizadas en laboratorio.	159
Cuadro 14A Correlaciones con significancia entre variables de propiedades funcionales del almidón y otras variables analizadas en laboratorio.	160
Cuadro 15A Correlaciones con significancia entre variables de índice de color del almidón. ..	160
Cuadro 16A Promedios de 27 variables analizadas en 19 colectas (22, 89, 93, 146, 160, 181, 281, 288) de cinco cultivares de haba (Cb, Ca, Ta, Tp, Cm), cultivadas en distintas localidades y años (Tlachichuca 2007, San Cayetano 2006, 2011, 2012, y Zoapan 2007, Puebla, México).....	161

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 Subdivisión botánica de <i>Vicia faba</i> , cultivares y criollos regionales	12
Figura 2.2 Producción de haba en grano, superficie cosechada y valor producido en pesos para los estados de mayor producción: A, Puebla; B, Tlaxcala; C, Estado de México; D, Hidalgo; E, Michoacán.	14
Figura 2.3 Producción nacional de haba en grano durante 2012.	15
Figura 2.4 Ubicación de los municipios de los cultivos de haba en estudio en el Estado de Puebla.	16
Figura 2.5 Ubicación de las localidades de Tlachichuca y Zoapan.	17
Figura 2.6 Mapa de climas de las localidades Tlachichuca y Zoapan	18
Figura 2.7 Mapa de suelos en las localidades del Tlachichuca y Zoapan.....	19
Figura 2.8 Mapa de ubicación de la localidad de San Cayetano, Ciudad Serdán, municipio de Chalchicomula de Sesma, Puebla.....	20
Figura 2.9 Mapa de climas en la localidad de San Cayetano.....	20
Figura 2.10 Mapa de suelos en el municipio de Chalchicomula, donde se encuentra San Cayetano.	21
Figura 2.11 Precipitaciones acumuladas mensuales, temperaturas máximas, mínimas y medias que se presentaron en: A. Tlachichuca; y B. Zoapan.	22
Figura 2.12 Condiciones climáticas en San Cayetano durante: A. 2006; B. 2011; C. 2012.	23
Figura 2.13 Precipitaciones, temperaturas máximas, mínimas y medias en las localidades: A. Tlachichuca en 2007; B. San Cayetano en 2011.	24
Figura 2.14 Mercado mundial del almidón; B. Consumo a nivel mundial del almidón durante 2009.	27

Figura 2.15 Imágenes de microscopía electrónica de gránulos de almidón. A. Haba, 1000 aumentos; B. Maíz céreo 1000 aumentos.....	55
Figura 3.1 Ejemplo de muestreo de gránulos de almidón para medición y clasificación de tamaños	72
Figura 4.1 Clúster del análisis de caracterización de ambientes.....	74
Figura 4.2 Posición relativa de medias o promedios en variables de caracteres de grano para las categorías de cultivares, granos de la localidad A. Tlachichuca, 2007, y B. San Cayetano 2011, Puebla.	76
Figura 4.3 Histogramas de promedios del A) grosor y B) peso de grano (100 semillas) evaluados en dos localidades, Tlachichuca 2007 (TLA - 07), y San Cayetano 2011 (S.CAY – 11).....	77
Figura 4.4 Posición relativa de medias en variables de caracteres de grano, para las categorías de ambientes, cosechas de Tlachichuca 2007(TLA), y Zoapan 2007(TLA), Puebla...	79
Figura 4.5 Posición relativa de medias de combinaciones posibles de cultivar por ambiente, cultivares 89 y 181, en ambientes Tlachichuca (TLA) y Zoapan (ZOA), ambos en 2007.	79
Figura 4.6 Posición relativa de medias de dos cultivares (Tarragona amarilla colecta 89, y Tarragona parraleña 181) sembradas en dos ambientes (Zoapan y Tlachichuca 2007), promedios por cultivar.....	80
Figura 4.7 Posición relativa de medias de variables de caracteres de grano en un solo cultivar (181Tp) en tres años de cosecha (2006, 2011, 2012) en San Cayetano, Puebla.	81
Figura 4.8 Medias de rendimientos de extracción de almidón, a partir de harina de granos (sin testa) de siete colectas de cinco cultivares, procedentes de la localidad de Tlachichuca 2007, y San Cayetano 2011.	83

Figura 4.9 Promedios del rendimiento de almidón en porcentaje de materia seca por localidad, (22, 93, 146, 160, 181, 281, 288) sembrados en dos localidades distintas, Tlachichuca 2007 (Tla-07), y San Cayetano 2011 (S.Cay-11)	84
Figura 4.10 A. Promedios de rendimiento de almidón de dos cultivares (89Ta y 181Tp) evaluados en dos ambientes distintos Zoapan 2007, y Tlachichuca 2007; B. Promedios por cultivar.	85
Figura 4.11 Promedios de los rendimientos de almidón de granos del cultivar 181 en la misma localidad (San Cayetano) en tres años distintos.	86
Figura 4.12 Posición relativa de medias de variables de propiedades químicas del almidón de haba, para las categorías de cultivares, cosechas de A. Tlachichuca 2007, y B. San Cayetano 2011, Puebla.	89
Figura 4.13 Posición relativa de promedios de propiedades químicas del almidón de haba, comparación del almidón extraído de granos cosechados en Tlachichuca 2007, y San Cayetano 2011, Puebla.	90
Figura 4.14 Posición relativa de promedios de propiedades químicas del almidón analizadas en los cultivares 89Ta y 181Tp, en dos ambientes (Tlachichuca 2007, TLA-07; Zoapan 2007, ZOA-07).	92
Figura 4.15 Posición relativa de promedios de propiedades químicas del almidón de haba evaluadas en dos cultivares (89Ta y 181Tp) bajo dos ambientes (Zoapan y Tlachichuca 2007), promedios por cultivares.....	92
Figura 4.16 Posición relativa de medias de propiedades químicas del almidón de haba evaluadas en dos cultivares (89Ta, 181Tp), bajo dos ambientes (Zoapan, ZOA07; y Tlachichuca 2007, TLA07), promedios en cultivar x ambiente.....	93
Figura 4.17 A. Microimagen por microscopía electrónica de barrido de un corte transversal de un grano maduro de haba sin testa. B. Imagen de amiloplastos, o gránulos de almidón contenidos en una célula del endospermo. C. Célula contenida en el tejido del endospermo.....	94

Figura 4.18 Posición relativa de medias de propiedades químicas del almidón, evaluado en tres años (2006, 2011, 2012), en un cultivar (181Tp), mismo ambiente (San Cayetano, Puebla).....	96
Figura 4.19 Posición relativa de medias de contenidos proximales, y pH del almidón. Evaluado en siete colectas de cinco cultivares, en San Cayetano, 2011.	98
Figura 4.20 Posición relativa de medias de contenidos proximales y pH del almidón evaluados en siete colectas de cinco cultivares, en Tlachichuca 2007.....	98
Figura 4.21 Posición relativa de medias de contenidos proximales y pH del almidón, comparación de medias de Tlachichuca 2007, y San Cayetano 2011.....	99
Figura 4.22 Posición relativa de medias de contenidos proximales y pH del almidón, comparación de dos cultivares (89Ta y 181Tp) en dos ambientes, Tlachichuca y Zoapan 2007.	99
Figura 4.23 Posición relativa de medias del contenido proximal y pH del almidón, comparación de medias de tres años de cosecha (2006, 2011 y 2012), un solo ambiente (San Cayetano) y un cultivar (181Tp).	100
Figura 4.24 Posición relativa de promedios de propiedades funcionales del almidón nativo de haba, en función de cultivares (22Cb, 93Cb, 146Cm, 160Cb, 281Ta, 288Ta) cultivados en Tlachichuca 2007.....	103
Figura 4.25 Posición relativa de medias de propiedades funcionales del almidón nativo de haba, categorías de cultivares (22Cb, 93Ca, 146Cm, 160Cb, 181Tp, 281Ta, 288Ta), cultivados en localidad San Cayetano 2011.	103
Figura 4.26 Posición relativa de promedios de claridad del almidón nativo de haba, a a diferentes horas de reposo, en función de dos ambientes, Zoapan 2007, y Tlachichuca 2007, se analizaron dos cultivares (89Ta y 181Tp).	104
Figura 4.27 Posición relativa de promedios de claridad del almidón nativo de haba en el cultivar 181Tp, en la misma localidad (San Cayetano) en tres años de cosecha (2006, 2011, 2012).....	106

Figura 4.28 Promedios de índices de color del almidón nativo de haba en posiciones relativas entre cultivares de la localidad de Tlachichuca 2007.	107
Figura 4.29 Promedios de índices de color en posición relativa entre cultivares, índice de blancura (IB), e índice de diferencia total de color (ΔE) en el almidón nativo de haba, localidad de San Cayetano 2011..	108
Figura 4.30 Promedios en posiciones relativas de los índices de color del almidón nativo de haba para dos localidades, en ambas se cosecharon siete colectas de cinco cultivares (22Cb, 93Ca, 146Cm, 160Cb, 181Tp, 281Ta, 288Ta).	108
Figura 4.31 Promedios de los índices de color del almidón nativo de haba, índice de blancura (IB), e índice de diferencia total de color (ΔE), para dos ambientes, evaluado en dos cultivares (89Ta y 181Tp).	109
Figura 4.32 Promedios del índice de color del almidón nativo de haba de granos del cultivar ‘Tarragona parraleña’ colecta 181 en tres años distintos de cosecha (San Cayetano).	110
Figura 4.33 Microfotografías de gránulos de almidón nativo de haba	111
Figura 4.34 Histograma con curva de normalidad de frecuencias de tamaños del diámetro mayor de los gránulos de almidón de haba medidos en el microscopio electrónico.	112
Figura 4.35 Histograma con curva de normalidad de frecuencias del área aproximada (μm^2) de los gránulos de almidón medidos en el microscopio electrónico.	113
Figura 4.36 Porcentajes aproximados de los tamaños de gránulos en el almidón nativo de haba.	114
Figura 4.37 Gráfica de Gabriel que representa la dispersión de 13 cultivares de haba, con base en los tres primeros componentes principales del análisis de 11 variables.	118
Figura 4.38 Dendograma y agrupación de los 13 cultivares (seis de Tlachichuca 2007, y siete de San Cayetano 2011) con base en 23.	119

Figura 4.39 Gráficas de análisis de coordenadas paralelas para el factor cultivar sobre 13 cultivares de haba con 23 variables.....	120
Figura 1A Fotografías de los cultivares de haba utilizados en ésta investigación.....	163
Figura 2A Imágenes de microscopía electrónica de barrido de gránulos nativos de haba A. Dentro de células del endospermo, B. Gránulos extraídos.....	164
Figura 3A Imágenes de microscopía electrónica de barrido de gránulos nativos de haba.	165
Figura 4A Imágenes del almidón extraído en el Laboratorio.	166
Figura 5A Ejemplos de muestreo de microimágenes sobre los almidones de cada colecta.	167

I. INTRODUCCIÓN

Las leguminosas para grano constituyen una parte importante de la dieta humana y del ganado en muchas partes del mundo debido a sus deseables propiedades nutricionales. Además de ser una rica y menos costosa fuente de proteínas, también es buena fuente de carbohidratos, minerales y vitaminas (Chavan *et al.* 1986; Tharanathan y Mahadevamma 2003; Zhang *et al.* 2007). El interés del presente estudio se enfoca en la especie *Vicia faba L.* y en su fracción de carbohidratos, concretamente en el almidón.

El almidón es una materia prima con un gran campo de aplicaciones, que pueden ser desde la impartición de textura y consistencia de los alimentos, hasta la manufactura de papel, adhesivos, farmacéuticos, empaques biodegradables (Zhao y Whistler 1994), y fibras textiles (Lunt 2000). La importancia del almidón como fuente de energía proveniente de las plantas no solo ha alcanzado fines nutricionales sino también fines industriales, con el beneficio relativo de fabricación de productos biodegradables en sustitución de productos hechos a base de petróleo, cuya materia prima es principalmente almidón de maíz (Lunt 2000).

La situación del mercado del almidón amerita la búsqueda de nuevas y diversas fuentes para fines específicos, pues la demanda existente es aun insatisfecha. Se calcula que anualmente se extraen 60 millones de toneladas de almidón. La mayor proporción del almidón producido en el mundo proviene de maíz y yuca, en menor proporción de papa, trigo y arroz, y solo una pequeña parte de otros cultivos. La mayor producción mundial de almidón es destinado a la producción de etanol y solo una pequeña parte es para consumo humano (FAO 2006).

En la flora de nuestro país hay muchas especies además del maíz, cuyo potencial para producir almidón no ha sido aprovechado, por lo que se ha seguido investigando materias primas alternativas ricas en carbohidratos. En relación al almidón extraíble de la especie *Vicia faba L.*, es escasa la información documentada, por lo que en el presente trabajo se pretende determinar cuál es la calidad de este almidón para describir su potencial en diversos campos. Adicionalmente, el haba es una leguminosa cuyo principal productor de grano en México ha sido el Estado de Puebla (SIAP 2013), su cultivo está concentrado en localidades de clima templado en la meseta central. Es limitada la información que existe sobre la calidad nutricional, composición química o de algunos otros componentes de importancia funcional de la semilla de haba de las variedades

criollas o introducidas que se cultivan en México y en el estado de Puebla. A este respecto, desde el año 2000, en la línea de investigación de fitomejoramiento del Colegio de Postgraduados del Campus Puebla, se realizaron colectas y selección de poblaciones para poder identificar material genético con buenos rendimientos y sanidad, que además, se adaptaran a diferentes ambientes. De este modo se seleccionó un número de cultivares reducido con características morfológicas y fenológicas deseables a las que se les han realizado estudios específicos sobre la composición química (García 2011), nutricional y funcional de las vainas y semillas de *Vicia faba* L. (Delgado-Alvarado *et al.* 2013; Fuentes-Herrera 2016).

En los cultivares de haba seleccionados se determinaron caracteres de grano, se realizó la extracción de almidón, se midió el rendimiento de almidón, se determinaron propiedades químicas (almidón total, amilosa/amilopectina, almidón soluble, almidón resistente), proximales (humedad, cenizas, azúcares solubles, lípidos y nitrógeno total) propiedades funcionales (índices de absorción de agua, poder de hinchamiento, solubilidad en agua, claridad de 0 a 72 h), pH, y color. Adicionalmente se analizó la morfología de los gránulos de almidón por microscopía electrónica de barrido; todo en función del factor ambiente, año de cosecha, y cultivar, para determinar los efectos que pudieran tener estas condiciones en el contenido de los compuestos analizados. Con tales resultados se plantearán bases para diseñar una estrategia que pueda impulsar el desarrollo agrícola. Así, los análisis realizados en éstos cultivares de haba y sus comparaciones representan una contribución al estudio de almidones nativos de haba cuyas características poseen potencial para un aprovechamiento con futuro prometedor en México. Ya que tienen las propiedades para ser considerados como una fuente alternativa de almidón para el mercado, para impulsar el desarrollo agrícola regional, a través de intensificar este cultivo con fines industriales.

1.1 Justificación del trabajo

La producción de haba en Puebla está arraigada a las tradiciones de las localidades donde se han cosechado los cultivares a utilizar en éste trabajo de investigación, los cuales a su vez se originaron de materiales de los principales estados productores del país, los Estados de México, Hidalgo, Tlaxcala y Puebla. En cuanto al entorno presente, es preciso señalar que el escenario ambiental, económico y social es complejo, por lo tanto, hay que tomar en cuenta muchos factores que son clave para que el rumbo de la industria de los alimentos y bioenergéticos sea responsable y que la utilización de sus materias primas contribuya a la innovación, mejoramiento de la calidad nutritiva, diversificación del mercado, que además sus procesos sean lo más sustentables posibles y que no se perjudique la seguridad alimentaria.

Por un lado está el aspecto ambiental, la necesidad de que la industria mejore procesos para disminuir la emisión de gases, que haya reducción de sustancias contaminantes, reducción del uso de combustibles fósiles y de recursos no renovables. Se buscan generar procesos sustentables y sostenibles, donde los recursos renovables no se utilicen a un ritmo superior al de su generación, mientras que los recursos no renovables se usen con moderación hasta que puedan ser reemplazados por recursos renovables. En el lado de los alimentos, se necesitan productos de mayor calidad alimenticia, mayor diversidad, si son procesados, es imprescindible, reanalizar los procesos para obtener no sólo productos atractivos al consumidor en términos de palatabilidad, o apariencia, sino también en términos de que los procesos de elaboración resulten en productos que desencadenen una digestibilidad en el organismo que ya haya sido minuciosamente probada, y que por tanto posean una fórmula más limpia (contenidos nutricionales aceptables y ausencia de compuestos que dañen la salud). El almidón es una materia prima no solo en la alimentación, sino en la generación de biocombustibles y biomateriales biodegradables (Ramírez *et al.* 2004). Después de las razones ecológicas y alimenticias se agregan las económicas, variaciones del comportamiento del mercado del petróleo, aunado a la creciente competencia de éste frente a innovaciones energéticas y bioenergéticas. Hoy el mercado de biomateriales 100 % biodegradables hechos a partir de almidón de maíz es competitivo con productos tradicionales a base del petróleo. En países desarrollados el almidón de maíz tiene gran demanda por ser la principal materia prima de biocombustibles y biomateriales, lo que también repercute en el mercado global de este grano. Por tales razones se hace imperativo diversificar las fuentes de extracción de almidones que

presenten mejores y más alternativas, más ventajas funcionales enfocadas para ciertos fines en la industria y por lo tanto, un mercado más equilibrado y diverso.

En el entorno social, el desarrollo agrícola de este país es heterogéneo, por un lado están los grandes productores con sistemas intensivos y tecnificados; por el otro, los pequeños productores y campesinos marginados. Paradójicamente, buena parte del conocimiento tradicional y riqueza de recursos genéticos están en zonas con algún grado de marginación y donde predomina la cultura indígena. De tal manera, en México hoy nacen nuevas tendencias de enfoques para el diseño de estrategias que implican la revalorización y el rescate de muchos de los sectores más subestimados en el mundo moderno. En este rescate se involucran fuertemente los valores y tradiciones propios de estas microrregiones, pues es ahora en estos lugares donde se encierra una de las fuentes más numerosa y valiosa de recursos genéticos del mundo (Mittermeier y Goettsch 1992). Para impulsar un verdadero desarrollo y crecimiento integral son necesarios enfoques empáticos con los actores principales de este sector: los campesinos, agricultores, e indígenas. Los análisis de estrategias ahora tienden a ser centrados en el actor con estructuras más flexibles, se pretenden más diseños interdisciplinarios donde se fomenten relaciones con actores clave que abran puertas, logrando la construcción de relaciones que enriquezcan los procesos que se lleven a cabo, se den resultados reales, donde empíricamente haya más corresponsabilidad, seguimiento, evolución y trascendencia.

1.2 Planteamiento del problema

Aun cuando las fuentes más comunes de almidones para alimentos han sido tradicionalmente los cereales y los tubérculos, los almidones de leguminosas se han convertido en una fuente potencial, al obtenerlos como subproducto en el proceso de fraccionamiento de sus semillas. El haba en México se cultiva principalmente en las regiones templadas. Predominantemente en los estados de Puebla, México, Tlaxcala, Veracruz, Michoacán, e Hidalgo (SIAP 2013). El consumo del haba puede ser incrementado si se desarrollan nuevos productos y nuevas opciones para su uso. Sin embargo, existe escasa información sobre las propiedades fisicoquímicas del almidón del grano de haba (Lorenz 1979; Colonna *et al.* 1981; López y Bermúdez 2001) y particularmente sobre los cultivares que existen en México. Un estudio sistemático de los almidones de diferentes cultivares de haba es de gran utilidad, como el de conocer las propiedades fisicoquímicas del

almidón entre cultivares y cómo afectan sus propiedades funcionales, y qué tan adecuadas son para su uso final específico. En el presente estudio se evaluó y caracterizó la calidad del almidón de la semilla de diferentes cultivares de haba, con el propósito de contribuir a la búsqueda de especies alternativas con potencial industrial, también documentar propiedades respecto a la calidad del almidón y contribuir al conocimiento sobre otras formas de aprovechamiento del haba, que puedan impactar para ampliar las áreas de cultivo y poder lograr un mayor desarrollo socioeconómico de las zonas productoras de esta especie.

1.3 Objetivos

Objetivo general

Caracterizar los granos de diferentes cultivares de haba de los principales Estados productores de México, así como aislar y caracterizar su almidón, analizando sus características químicas, funcionales, y físicas; todo en función del ambiente, año de colecta y cultivar, con el fin de determinar si éstos factores influyen en las características analizadas, y comprobar si existe relación entre ellas, referir sobre el potencial del almidón de haba en la industria del país.

Objetivos particulares

Determinar las características morfológicas de los granos de los cultivares de haba (largo, ancho, grosor, peso y volumen) en función del ambiente, año de cosecha y cultivar, y analizar la posible relación de las características morfológicas con alguna característica físico química del almidón.

Seleccionar el método de extracción del almidón y evaluar el rendimiento de extracción de los cultivares de haba en función del ambiente, año de cosecha y cultivar.

Realizar el análisis proximal en el almidón extraído (humedad, cenizas, azúcares solubles totales, proteína total y lípidos) y pH del almidón extraído de diferentes cultivares de haba, en función del ambiente, año de cosecha y cultivar, con el fin de evaluar el posible efecto de estos factores sobre estos componentes.

Cuantificar en el almidón las propiedades químicas: almidón total, almidón resistente, almidón soluble, Amilosa, amilopectina, y Amilosa/amilopectina, en diferentes cultivares de haba en función del ambiente, año de cosecha y cultivar.

Determinar las características funcionales: claridad de pasta, índice de absorción de agua, índice de solubilidad, y poder de hinchamiento del almidón extraído en función del ambiente, año de cosecha y cultivar.

Determinar características físicas en el almidón: morfología de gránulos del almidón por microscopía electrónica, e índices de color, en función del ambiente, año de cosecha y cultivar.

1.4 Hipótesis

Las características morfológicas de las semillas varían significativamente según el cultivar, ambiente de desarrollo, y/o año de cosecha.

El rendimiento de almidón extraído, sus propiedades químicas, físicas, y / o funcionales varían significativamente según el cultivar, ambiente, y/o año de cosecha.

Existe alguna correlación significativa entre alguna característica morfológica del grano de haba con el rendimiento, o alguna propiedad físico-química, o funcional de su almidón.

II. REVISIÓN LITERARIA

2.1 Características del cultivo de haba

Pertenece a la familia Fabaceae. El haba es una planta herbácea anual, de tallos semirrectos de hasta 1.6 m de altura. Originaria de la cuenca mediterránea o del Asia central. Su cultivo se ha extendido en las zonas frías y templadas. Posee hojas alternas, paripinnadas y compuestas. Las flores se presentan en racimos axilares de 2 a 8, las cuales son fragantes y grandes, alcanzando 4 cm, con pétalos blancos manchados de violeta, púrpura o negro. Son hermafroditas, y la planta es capaz de autopolinizarse. El fruto es una legumbre cuya vaina en las variedades nativas utilizadas en este trabajo, varían en su longitud entre 6 y 9 cm, conteniendo alrededor de 2 o 3 granos (Pichardo-Riego 2013). La vaina es de color verde en estado inmaduro, se oscurece y se vuelve pubescente al secarse. Las semillas son oblongas, de tamaño más o menos grande, dependiendo de

la variedad, y de color verde amarillento que al madurar se vuelve bronceado. También hay variedades de grano negruzco y morado, entre otros (Phillips *et al.* 1993).

La temperatura óptima de cultivo está en torno a 15 °C, el pH del suelo es preferible entre 6 y 7.5. Requiere aproximadamente 700 mm anuales de lluvia, es tolerante a las heladas. La elongación de las vainas y el crecimiento de los granos se producen en forma simultánea, a diferencia de otras leguminosas, en las que primero se da la elongación de las vainas (Cano 1994).

La semilla está compuesta por la testa, los cotiledones y el eje embrionario; en el punto en que la semilla se conecta a la vaina a través del funículo queda posteriormente una cicatriz que corresponde al hilio. Prácticamente junto a uno de los extremos del hilio se presenta el micrópilo, que corresponde a una abertura microscópica natural a través de la cual ingresa agua a la semilla en los estados tempranos de la germinación. Los cotiledones protegen al eje embrionario y lo proveen de nutrientes durante la germinación y el establecimiento de la plántula. El eje del embrión está formado por la radícula, el hipocótilo, el epicótilo, la plúmula y dos hojas vestigiales. En los cultivares de la variedad *minor* las semillas son pequeñas, pesando entre 30 y 70 g las 100 unidades. En los cultivares de la variedad equina, el peso de 100 semillas fluctúa entre 70 y 110 g y en los cultivares de la variedad *major*, en donde las semillas son de tamaño grande, el peso de 100 semillas varía entre 120 y 180 g. El color de las semillas secas puede ser crema, café, café púrpura, rojo, negro o verde plomizo (Cano 1994).

2.1.1 Composición química y valor nutritivo del grano seco

Según la variedad la composición química de los granos maduros puede tener ligeras variaciones (Waldemar *et al.* 1999). En promedio los granos maduros se caracterizan por contener predominantemente almidón, proteína y fibra, tal como se observa en el Cuadro 2.1. En algunos estudios se ha comprobado que el valor biológico de su composición se correlaciona negativamente con el contenido de proteína (Bjerg *et al.* 1988).

El contenido de algunos componentes anti-nutricionales como son algunos taninos y compuestos tóxicos afectan negativamente la calidad y también la digestibilidad, sobre todo en animales monogástricos. Sin embargo, los niveles de concentración de estos compuestos potencialmente dañinos y que causan padecimientos como el fabismo están sólo presentes en

algunas variedades; los compuestos a los que se atribuye dicho padecimiento son los glucósidos pirimídicos vicina y convicina (Bjerg *et al.* 1984).

Cuadro 2.1 Composición química promedio de un grano seco de haba.

Componente	(%)
Humedad	12.0 – 14.0
Carbohidratos	50.0 – 55.0
Proteína	23.0 – 24.0
Grasa	1.0 – 1.5
Fibra	8.0 – 9.0
Ceniza	3.0 – 3.5
Almidón Disponible	32.8
Almidón Resistente	4.06

Fuente: Silva *et al.* (2007).

Por otro lado, el contenido de almidón no se correlaciona con la calidad o el valor nutritivo del grano. El contenido de aminoácidos con azufre es relativamente bajo. Las proteínas que predominan son las de dos familias conocidas como vicilinas y leguminas, dichas proteínas son ricas en lisina, pero pobres en treonina y metionina, aminoácidos esenciales. Son conocidas como proteínas de almacenamiento en leguminosas y forman parte de las globulinas (Sáenz y Carnicier 2010; Casey *et al.* 1981).

Entre las vicilinas y leguminas se puede detectar tal similitud en sus genes que se puede asegurar que ambas proteínas provienen del mismo origen y lo que las distingue es su estructura secundaria y sus coeficientes de sedimentación; se ha determinado que en tales proteínas existe una posible secuencia ancestral de 133 aminoácidos y en tal cadena se localizan 4 elementos formados por 5 aminoácidos que derivan de la serie EDEEE, siendo E el ácido glutámico, y D el ácido aspártico, que están presentes en significativa proporción, tal como se observa en la composición de aminoácidos del grano de haba del Cuadro 2.2 (Sáenz y Carnicier 2010; USDA National Nutrient data base 2012). La fertilización o fertilidad del suelo con nitrógeno, fósforo y azufre pueden influir positivamente en la calidad proteínica del haba (Derbyshire *et al.* 1976; Casey *et al.* 1981), esto se debe a que se ha comprobado en leguminosas que un manejo adecuado de suelo, disponibilidad de humedad, en combinación con aplicación de fertilización nitrogenada en un momento adecuado en el que hay mayor demanda de nitrógeno (durante la elongación de vaina y llenado de grano, cuando la nitrato reductasa ya ha disminuido su actividad) puede aumentar el contenido de proteína en el grano (Brevedan *et al.* 2007). En cuanto al contenido de vitaminas

destacan las vitaminas B1 y B9, y en sus minerales el hierro y el potasio, tal y como se aprecia en el Cuadro 2.2.

Cuadro 2.2 Aportes por ración de 100 g de grano seco de haba.

Componente	Aporte
Energía [Kcal]	307.00
Proteína [g]	26.10
Hidratos carbono [g]	33.30
Fibra [g]	25.00
Grasa total [g]	2.10
AGS ¹ [g]	0.30
AGM ² [g]	0.30
AGP ³ [g]	1.10
AGP /AGS	3.67
(AGP + AGM) / AGS	4.67
Agua [g]	10.40
Minerales	
Calcio [mg]	100.00
Hierro [mg]	5.50
Yodo [mg]	2.00
Magnesio [mg]	190.00
Zinc [mg]	3.10
Selenio [µg]	8.20
Sodio [mg]	11.00
Potasio [mg]	1 090.00
Vitaminas	
Vit. B1, Tiamina [mg]	0.50
Vit. B2, Riboflavina [mg]	0.26
Eq. niacina [mg]	6.90
Vit. B6, Piridoxina [mg]	0.37
Ac. Fólico [µg]	423.00
Vit. C, Ac. ascórbico [mg]	4.00
Vit. A, Eq. Retinol [µg]	42.00
Ácidos grasos	
Palmítico C16:0 [g]	0.24
Estearico C18:0 [g]	0.04
Oléico C18:1 [g]	0.29
Linoléico C18:2 [g]	1.02
Linolénico C18:3 [g]	0.08
Aminoácidos	
Alanina [mg]	1 070.00
Arginina [mg]	2 411.00
Ac. aspártico [mg]	2 916.00

Componente	Aporte
Ac. glutámico [mg]	4 437.00
Cistina [mg]	334.00
Fenilalanina [mg]	1 103.00
Glicina [mg]	1 095.00
Histidina [mg]	664.00
Isoleucina [mg]	1 053.00
Leucina [mg]	1 964.00
Lisina [mg]	1 671.00
Metionina [mg]	213.00
Prolina [mg]	1 099.00
Serina [mg]	1 195.00
Tirosina [mg]	827.00
Treonina [mg]	928.00
Triptófano [mg]	247.00
Valina [mg]	1 161.00

1 = ácidos grasos saturados, 2 = ácidos grasos monoinsaturados, 3 = ácidos grasos poliinsaturados.

Fuente: USDA National Nutrient data base, 2012.

El contenido de fibra es muy apreciable (Cuadro 2.1) y relacionado con esto, se hacen presentes en las células del tejido del endospermo pequeñas cantidades de fructosanas (Bjerg *et al.* 1988). Estos compuestos, constituidos de múltiples moléculas de fructosa unidas a una de glucosa, se encuentran en la membrana celular y proveen a la célula y a la semilla resistencia a bajas temperaturas y heladas (Suzuki *et al.* 1993).

Componentes característicos de las habas maduras son los α -Galactósidos, oligosacáridos considerados como los responsables de la flatulencia, debido a la ausencia de la enzima endógena para su digestión en la parte superior del tracto gastrointestinal, también estos compuestos poseen aparentes efectos como prebióticos, por lo que están siendo revalorizados.

Los α -Galactósidos (rafinosa, estaquiosa y verbascosa) son los principales oligosacáridos contenidos en el grano seco de haba y son solubilizados junto con las proteínas en la fracción líquida durante la extracción de almidón con agua (Guillon *et al.* 2002). Fisiológicamente, su función es proveer de energía a la semilla hasta la germinación, proceso en el cual desaparecen (Dostalova *et al.* 2001). También ayudan a proteger a la semilla del estrés abiótico que se produce con frío y desecación. Su formación se lleva a cabo en la última etapa de la maduración del grano, cuando éste se seca (Jones *et al.* 1998). Entre las labores de cultivo que más afectan la

concentración de α -Galactósidos en los granos es el riego, pues si el cultivo es regado de forma óptima la concentración de estaquiosa y verbascosa disminuyen (Szukala *et al.* 2001). Adicionalmente, los granos de haba contienen fitonutrientes, isoflavonas como genistéina y daidzeina que, se ha comprobado a nivel laboratorio con animales, que protegen contra el cáncer de seno. Los granos también contienen fitoesteroles, específicamente el β -sitoesterol que ayuda a bajar el nivel de colesterol. El grano de haba contiene L-dopa, compuesto precursor de neurotransmisores del cerebro como la dopamina (asociada a la suavidad de los movimientos corporales), epinefrina y non-epinefrina. El haba es recomendada para la prevención de enfermedades como mal de Parkinson y desórdenes de disfonía por falta de dopamina (Holden 2013).

2.1.2 Variedades botánicas y cultivares

El haba pertenece a la división *Spermatophyta*, subdivisión *Angiospermae*, clase *Dicotyledoneae*, subclase *Rosidae*, orden *Fabales*, familia *Fabaceae*, tribu *Vicieae*, género *Vicia* y especie *faba* L. (Cronquist 1981). Para esta especie se han descrito diversas subespecies y variedades. En la clasificación taxonómica realizada por Muratova (1931) se diferencian dos Subespecies: Subsp. *faba* (con las variedades *faba*, *equina* y *minor*) y subsp. *paucijuga*. Hanelt (1972) también reconoce dos subespecies, pero en este caso son: subsp. *faba* (con las variedades *faba* y *equina*) y subsp. *minor* (con la variedad *minor*), pero considera a *paucijuga* como una raza geográfica de la subsp. *minor*. Cubero (1974) distingue sólo la subespecie *faba* con cuatro variedades: *faba*, *equina*, *minor* y *paucijuga*. La variedad *faba* se conoce comúnmente como variedad *major*.

Duc (1997) propone la subdivisión de cuatro variedades botánicas, en atención a un mayor número de características, como tallo, hoja, semilla, vainas y tipo de reproducción, algunas de las principales características de las variedades de *Vicia faba* L. en esta clasificación son:

Vicia faba paucijuga, tiene tallos cortos, hojas y semillas pequeñas (peso de 1000 semillas menor de 250 g) y reproducción autógena.

Vicia faba major, produce semillas grandes (peso de 1000 semillas mayor a 1000 g), esta variedad se desarrolló en el Sur del Mediterráneo y en China, durante la conquista su cultivo se extendió desde México a toda Sudamérica.

Vicia faba minor, produce semillas pequeñas (peso de 1000 semillas menor a 500 g), se cultiva en Etiopía y en el norte de Europa.

Vicia faba equina, presenta semillas de tamaño medio y se desarrolla principalmente en el medio Este y Egipto.

Las variedades que existen en la Mesa Central de México difieren en tamaño de semilla, lo que hace que los tipos grandes tengan un peso mayor a 2 kg por cada 1000 granos. Además, las vainas miden de 8 a 13 cm de longitud, con 1 a 3 semillas por vaina. El color del grano varía desde blanco, amarillo, café rojizo, morado, pinto y moteado (Herrera *et al.* 2002). Las habas criollas de México se enmarcan en la subdivisión botánica *Vicia faba major* cultivar “asiático”, de vaina corta, gruesa y granos grandes y pocos (Figura 2.1) (Herrera *et al.* 2006).

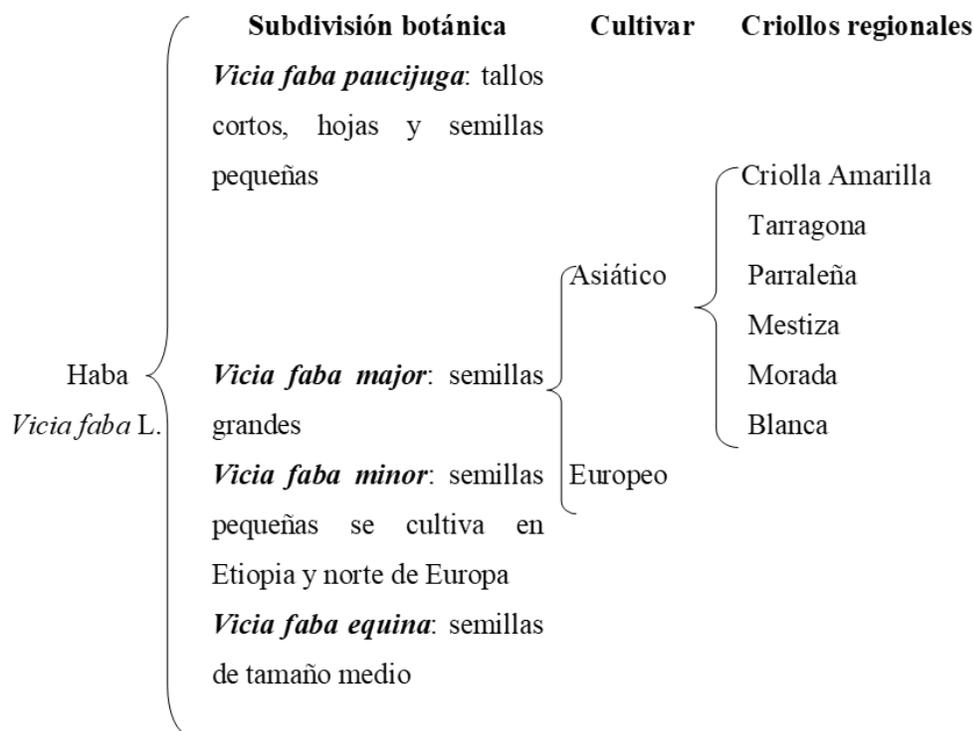


Figura 2.1 Subdivisión botánica de *Vicia faba*, cultivares y criollos regionales (Herrera-Cabrera *et al.* 2006).

2.1.3 Importancia del cultivo en la economía de México

El haba es una leguminosa de grano de gran importancia económica y social, sobre todo en los Valles Altos de la Mesa Central, donde se concentra 98% de la producción nacional (Pichardo

2010). Esta zona incluye los estados de México, Puebla, Tlaxcala, Hidalgo, y Michoacán. El Estado de México ocupa el primer lugar en superficie sembrada de haba para cosecha en verde y el Estado de Puebla para cosecha de grano seco (Yoldi 2011; SIAP 2013). Se cultiva también en las zonas altas de Veracruz y Chiapas. Se estima que el consumo *per cápita* es de 1 kg (López *et al.* 2010).

La mayor producción del país y valor producido en pesos de haba en grano durante el período 2002 a 2012 se concentró en el Estado de Puebla, como se ve en la figura 2.2A. Le siguen en importancia los estados de Tlaxcala (Figura 2.2B) y Estado de México (Figura 2.2C).

La mayor superficie que se cultiva es en condiciones de temporal durante el verano, (en el caso de las variedades ocupadas en este trabajo, en cada año de estudio, la siembra se llevó a cabo entre la primera y segunda semana del mes de marzo y la cosecha en la última semana de noviembre), aunque también se cultiva en lugares con inviernos benignos en condiciones de riego. Los estados con menor producción están representados por Hidalgo (Figura 2.2D) y Michoacán (Figura 2.2E).

El consumo se concentra en mayor proporción en sectores con menos recursos, a lo que se atribuye su gran importancia social. Adicionalmente, la producción de haba genera una mayor rentabilidad comparada con productos tradicionales como maíz y frijol, por lo que es factible incrementar su consumo (López 2010). Los rendimientos van desde 1 a 2.7 ton/ha (SIAP 2013), aunque en los estados del centro del país el rendimiento promedio es de 1.4 ton/ha (Pichardo 2010).

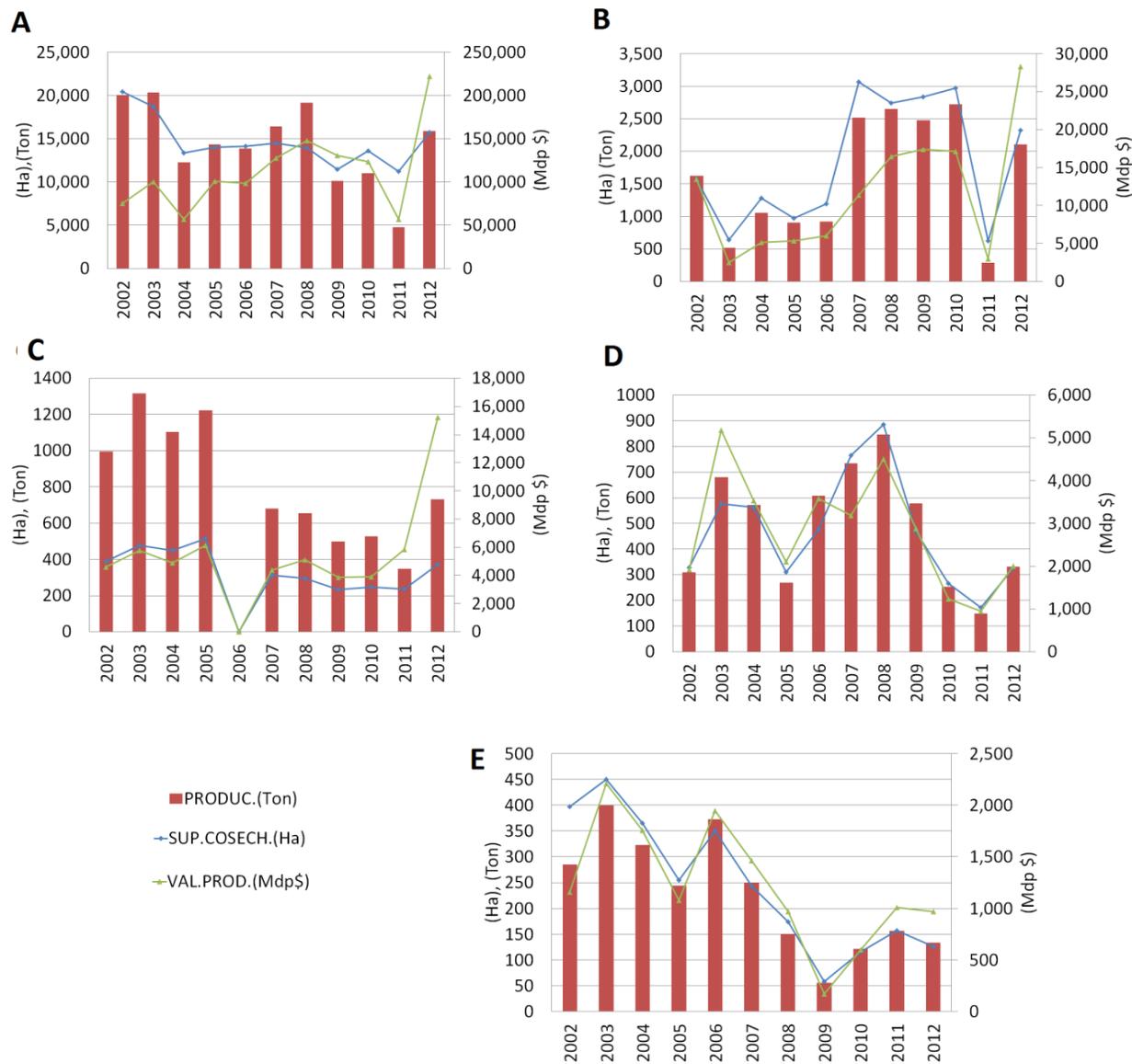


Figura 2.2 Producción de haba en grano, superficie cosechada y valor producido en pesos para los estados de mayor producción: A, Puebla; B, Tlaxcala; C, Estado de México; D, Hidalgo; E, Michoacán. Elaboración con datos extraídos del SIAP (2013).

En la Figura 2.3 se muestra gráficamente el comportamiento de la producción de haba en grano, la superficie cosechada y el valor producido para los cinco estados con mayor producción en México, durante el año 2012. El estado de Puebla representa 83% de la producción nacional (Figura 2.3).

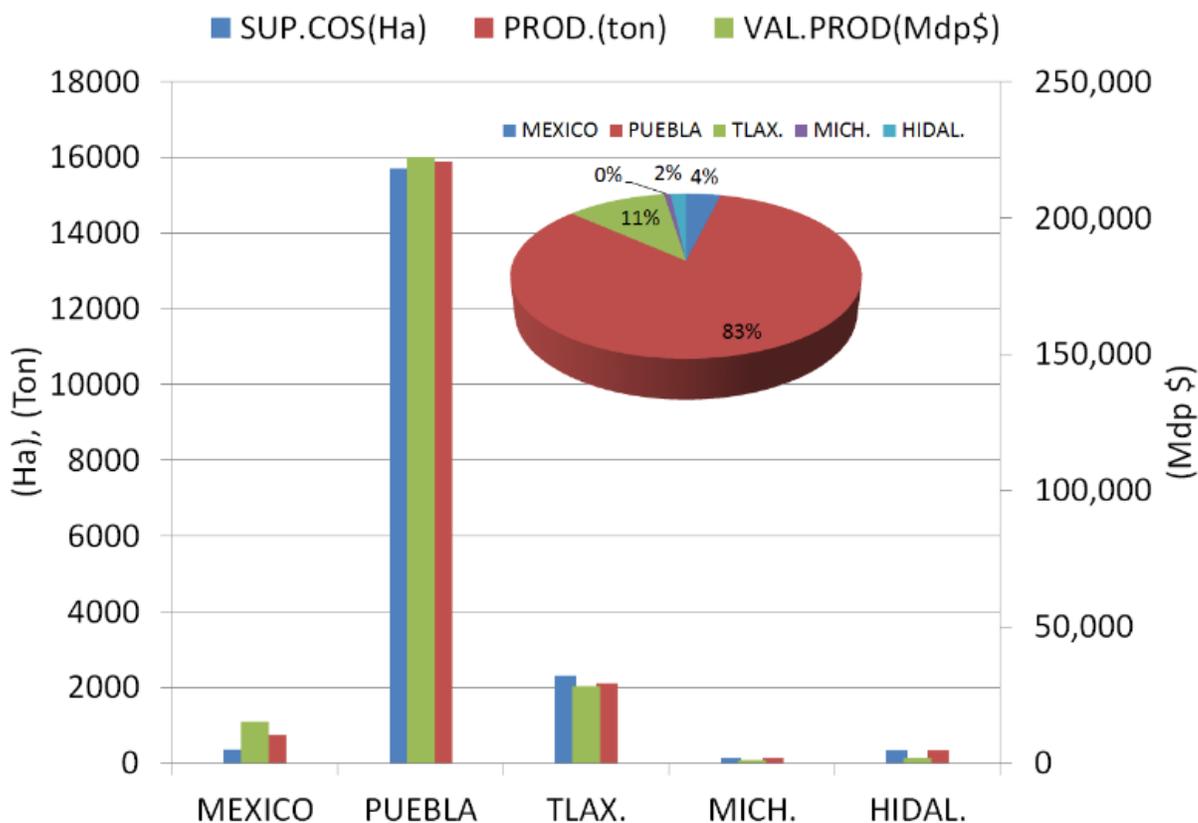


Figura 2.3 Producción nacional de haba en grano durante 2012. Elaboración con datos del SIAP (2013).

2.2 Marco geográfico del origen del material vegetal

Los lugares donde se cultivó el material analizado son en la localidad de San Cayetano, municipio Ciudad Serdán, cosechas 2006, 2011 y 2012; en San Miguel Zoapan, y en Tlachichuca, cerca de la cabecera municipal, ambas del municipio de Tlachichuca, y cuyas cosechas fueron del 2007; pertenecientes al Estado de Puebla.

Las coordenadas de las localidades de donde provienen los granos de haba son: Tlachichuca con Latitud: 19.14, Longitud: -97.41, altura: 2,780.0 msnm; San Miguel Zoapan, Latitud: 19.08, Longitud: -97.35, altura de 2980 msnm, ambas del municipio de Tlachichuca (Figuras 2.4 y 2.5); San Cayetano, lugar situado a escasos kilómetros de la cabecera municipal Ciudad Serdán en el

Municipio de Chalchicomula de Sesma, sus coordenadas geográficas son Longitud: 18.98, Latitud: -97.45, altitud de 2 565 msnm (Figura 2.4 y 2.8).

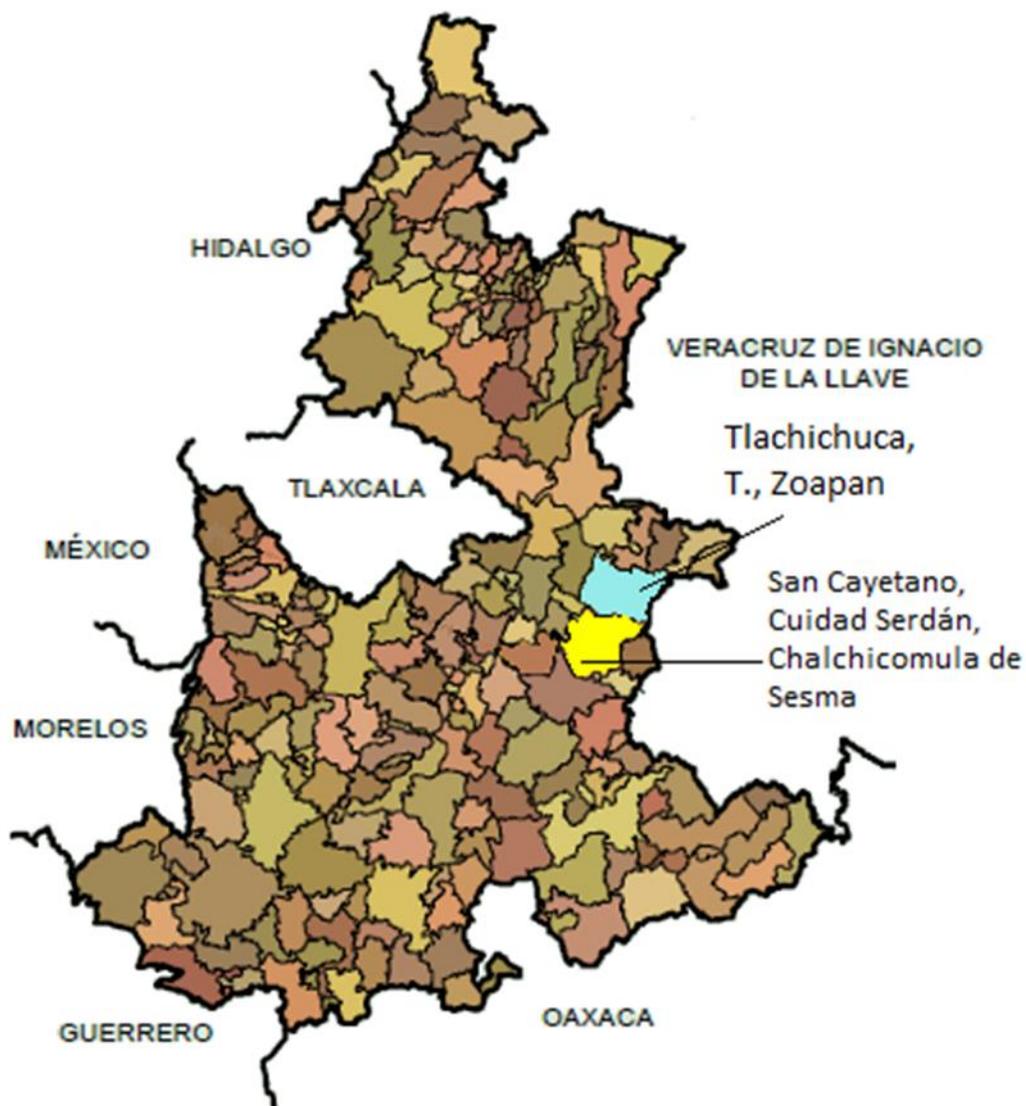


Figura 2.4 Ubicación de los municipios de los cultivos de haba en estudio en el Estado de Puebla. Fuente: INEGI (2010).

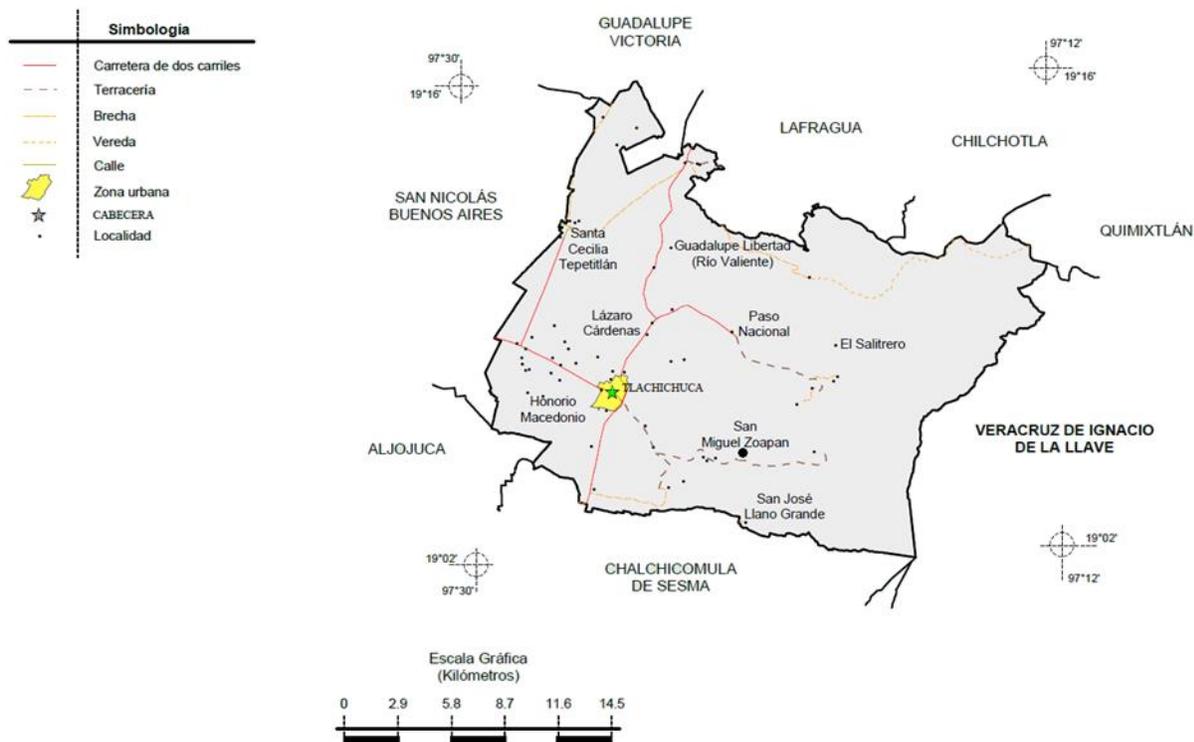


Figura 2.5 Ubicación de las localidades de Tlachichuca y Zoapan. Fuente: INEGI (2010).

En cuanto al clima de las localidades de Tlachichuca, y Zoapan se identifican (según la clasificación de Köppen modificada a las condiciones de México) el C (w1) en Tlachichuca, y el Cb' (w2) en Zoapan (CONABIO 2012), (Ver Figura 2.6). El clima C, se denomina como clima templado subhúmedo, su temperatura media del mes más frío entre -3 y 18°C , ésta característica está presente en el clima C de Tlachichuca, con una temperatura media del mes más caliente mayor a 10°C . La inicial Cb' de Zoapan indica una variación en la temperatura dentro de los climas C, resultado de su mayor altitud con respecto a Tlachichuca, es denominado como semifrío con verano fresco largo, temperatura media anual entre 5 y 12°C , y temperatura del mes más frío entre -3 y 18°C , temperatura del mes más caliente bajo 22°C . La inicial (w) presente en el clima de ambas localidades indica lluvias en verano, e invierno seco (porcentaje de lluvia invernal entre el 5% y 10.2%), por lo menos diez veces mayor cantidad de lluvia en el mes más húmedo de la mitad caliente del año (de mayo a octubre) que en el mes más seco, precipitación del mes más seco menor a 40 mm (esto tanto en C como en Cb'). Los climas C (w) son característicos de ésta zona del país, que aunque son cercanos al Tropic de Cáncer, poseen tales características sobre todo por su altitud, y exposición a vientos húmedos, y del norte. Finalmente, las variantes (w1) de Tlachichuca,

y (w2) de Zoapan, se refieren sobre todo a diferencias de humedad (clasificando diferencias del valor del cociente de la precipitación anual acumulada entre la temperatura media anual P/T , y tomando como referencia dos límites, como límite superior, el cuartil superior $Q_3 = 55$ de los cocientes P/T de todas las estaciones meteorológicas del país con clima $C(w)$, y el límite inferior establecido con otros climas de $P/T = 43.2$). La variante (w2) se denomina como la más húmeda de las tres variantes que hay ((w0), (w1), (w2)), con un cociente P/T mayor a 55 (mM/Ta, ó milímetros anuales de precipitación / Temperatura media anual); por otro la variante (w1) se denomina así por poseer un cociente intermedio entre 55 y 43.2, resultando en una humedad media, siendo la variante $C(w0)$ la más seca con un cociente menor de 43.2). Resumiendo, el clima de Zoapan $Cb'(w2)$ es un poco más frío y húmedo que el de Tlachichuca $C(w1)$, ver Figura 2.6.

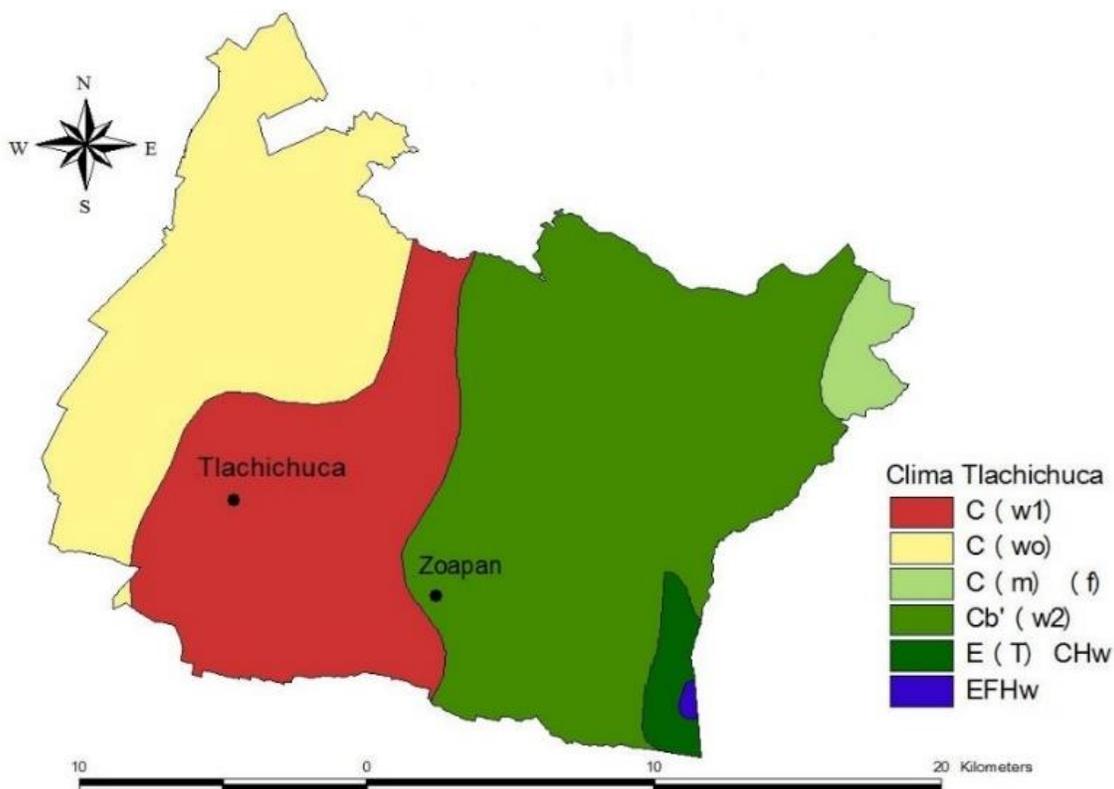


Figura 2.6 Mapa de climas de las localidades Tlachichuca y Zoapan. Elaboración propia con el software ArcGis 10.0 con datos de CONABIO (2012).

En cuanto a características de suelo en el municipio de Tlachichuca se identifican suelos pertenecientes a seis grupos (Figura 2.7): Andosol, Litosol, Feozem, Fluvisol, Arenosol, Regosol. El regosol es el suelo predominante, y es el tipo de suelo presente en ambas localidades donde se cultivó el material vegetal.

Los regosoles (del griego *reghos*, manto) son suelos muy jóvenes, generalmente resultado del depósito reciente de roca y arena acarreadas por el agua; de ahí que se encuentren sobre todo en sierras, donde son acumulados por los ríos que descienden de la montaña cargados de sedimentos. Las extensiones más vastas de estos suelos en el país se localizan cercanas a la Sierra Madre Occidental y del Sur (FAO 1998), ver Figura 2.7.

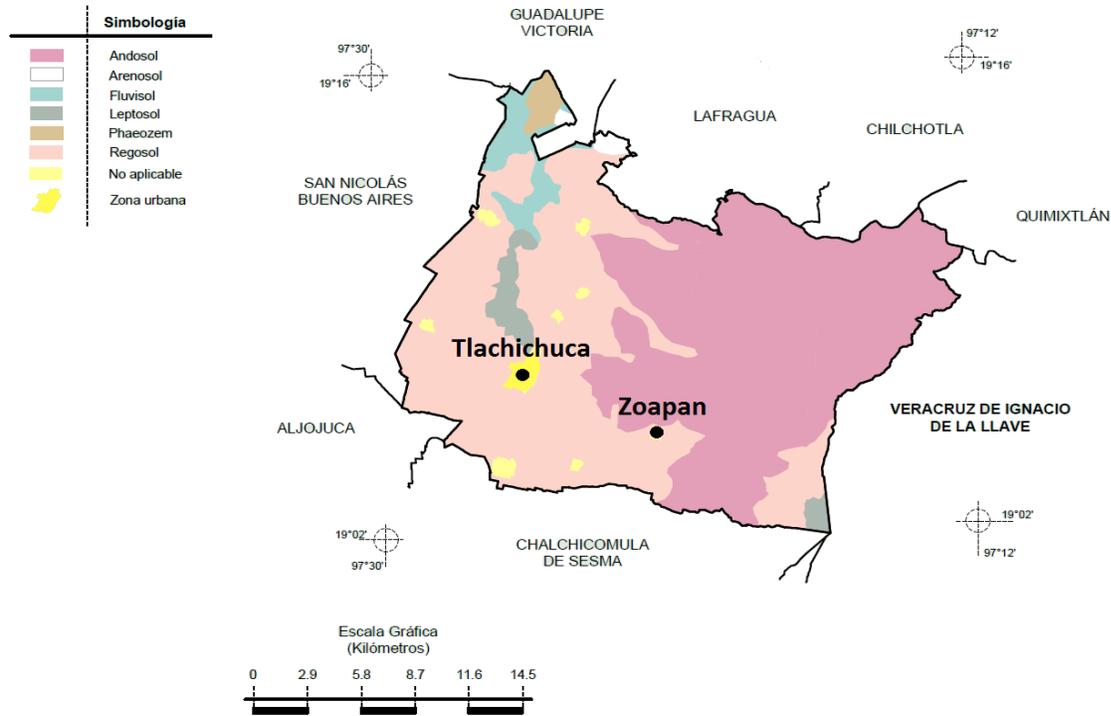


Figura 2.7 Mapa de suelos en las localidades del Tlachichuca y Zoapan. Fuente: INEGI (2010).

En la figura 2.8 se muestra en el mapa la ubicación de la localidad de San Cayetano en el municipio de Chalchicomula de Sesma, Puebla. En cuanto al clima de San Cayetano se muestra en la Figura 2.9 que el clima identificado es $C(w_0)$, templado subhúmedo con lluvias en verano, de menor humedad, donde el rango de temperatura y rango de precipitación es de 2 – 16°C, y 400 – 900 mm, Clima Templado subhúmedo con lluvias en verano, de menor humedad, ver Figura 2.9 (INEGI 2010).

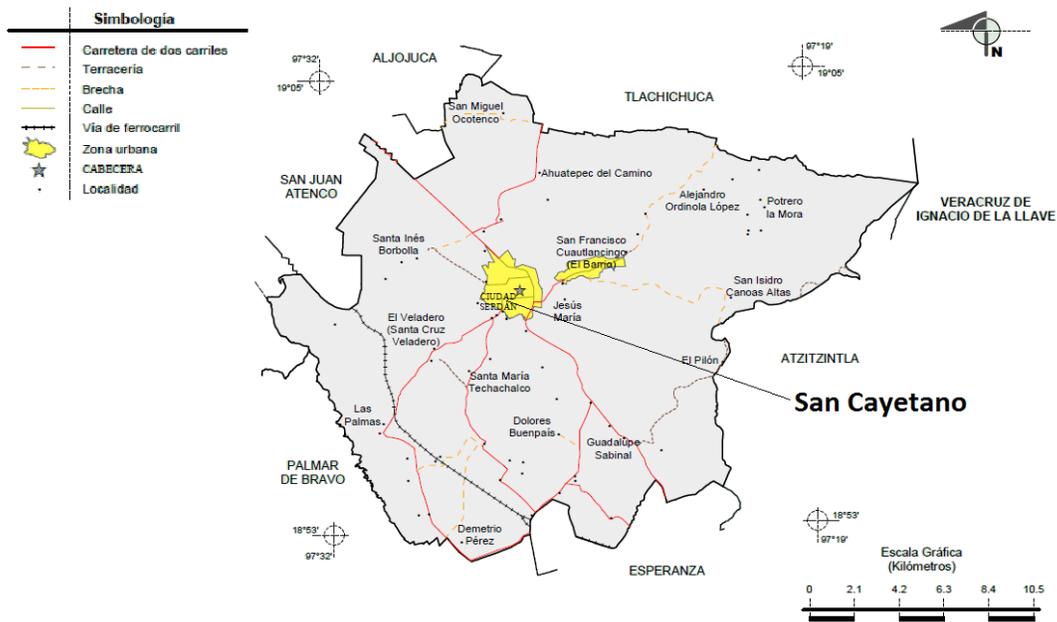


Figura 2.8 Mapa de ubicación de la localidad de San Cayetano, Ciudad Serdán, municipio de Chalchicomula de Sesma, Puebla. Fuente: INEGI (2010).

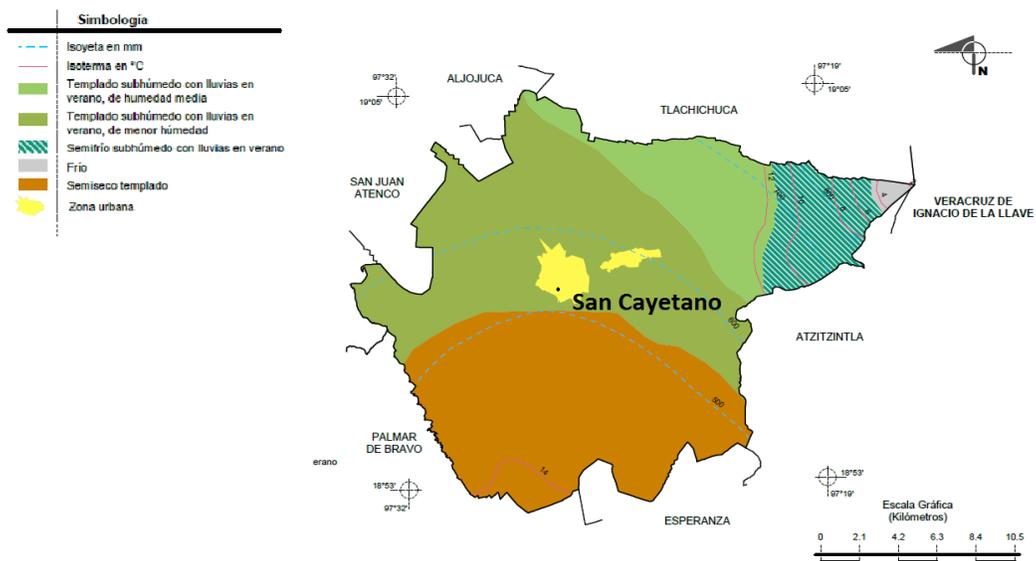


Figura 2.9 Mapa de climas en la localidad de San Cayetano. Fuente: INEGI (2010).

Los suelos dominantes en Chalchicomula son: Regosol (66.34%), Arenosol (24.33%), Andosol (4.61%) y Leptosol (2.04%). El regosol es el tipo de suelo correspondiente a San Cayetano (Figura 2.10).

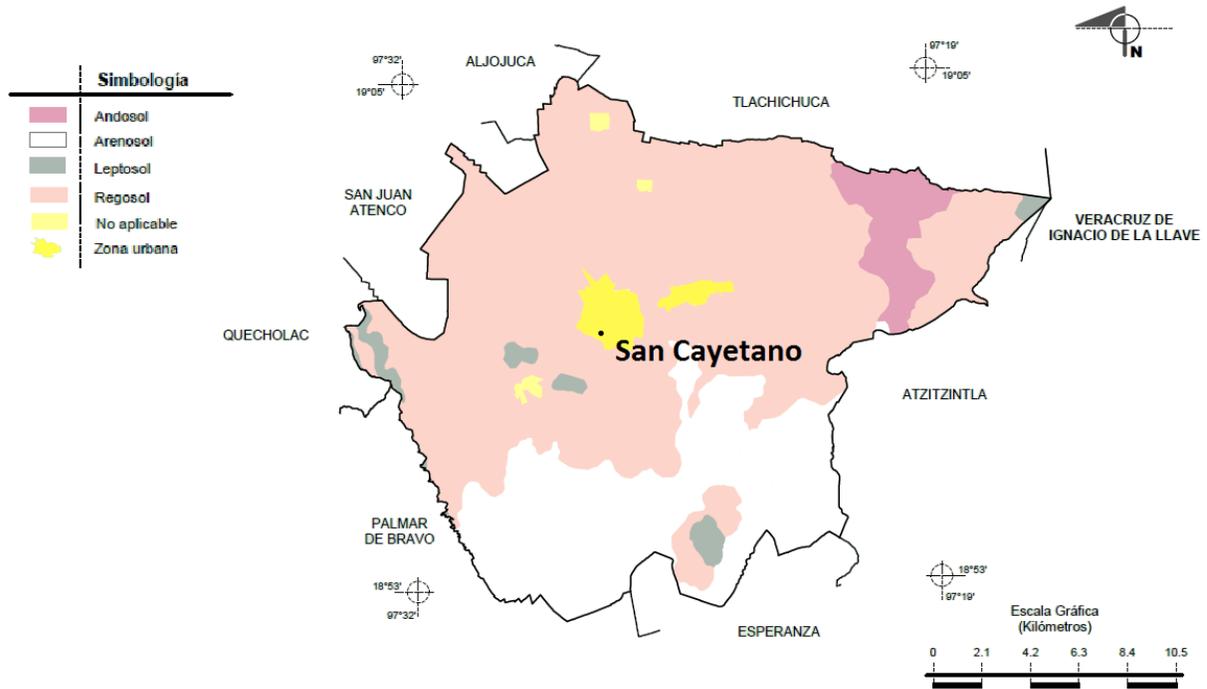


Figura 2.10 Mapa de suelos en el municipio de Chalchicomula, donde se encuentra San Cayetano. Fuente: INEGI (2010).

2.3 Condiciones climáticas durante el desarrollo de los granos

En los cuadros 2.10A, 2.11A y 2.12A (ver anexos) y las Figuras 2.11, 2.12, y 2.13, se muestran los datos de las condiciones climáticas interpoladas en tiempo real de las localidades donde se cultivaron las poblaciones de haba utilizadas en este trabajo, correspondientes a los tiempos durante la siembra y el desarrollo de los granos utilizados en este estudio.

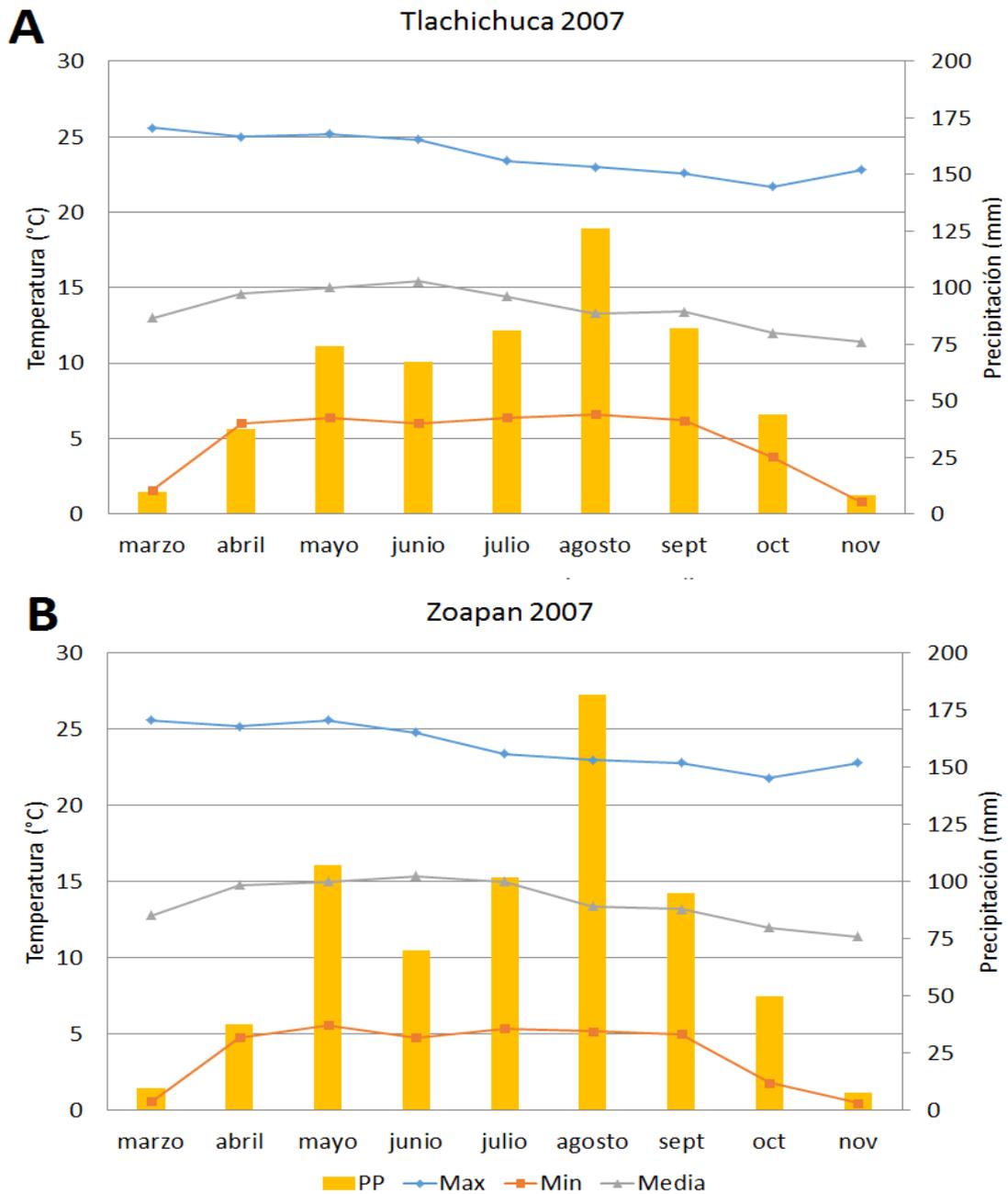


Figura 2.11 Precipitaciones acumuladas mensuales, temperaturas máximas, mínimas y medias que se presentaron en: A. Tlachichuca; y B. Zoapan. Elaboración propia con interpolaciones (INIFAP, SMN 2013).

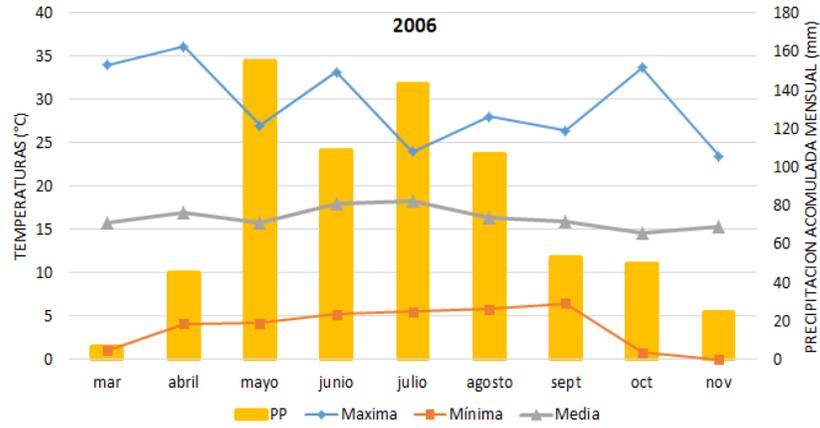
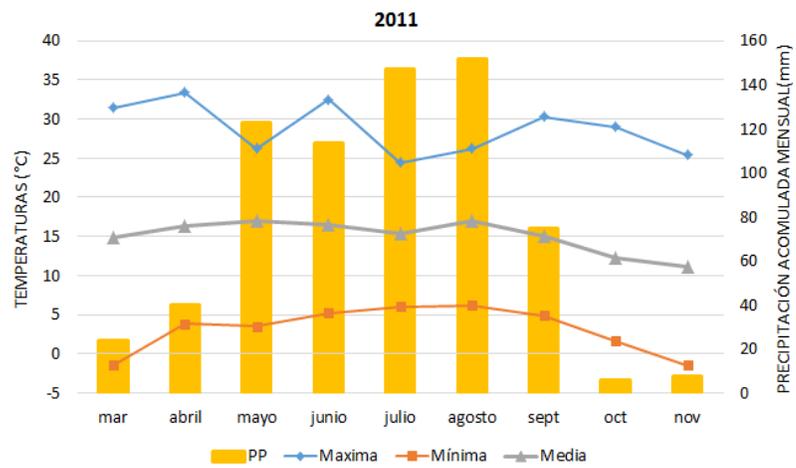
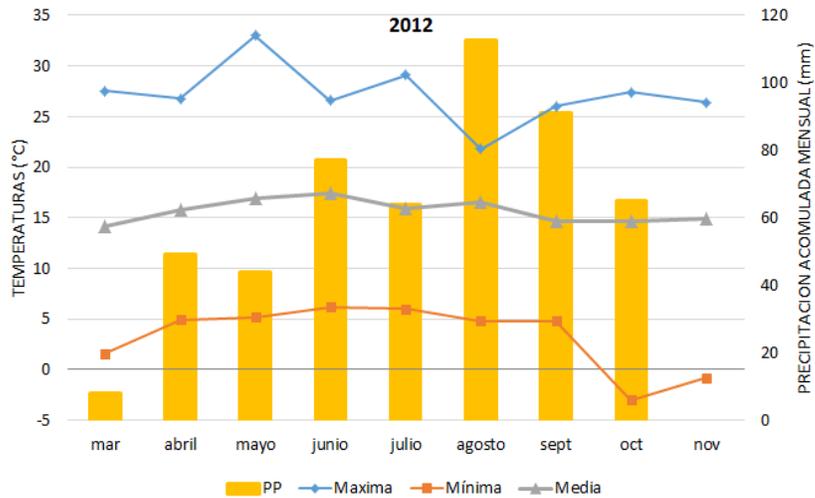
A**B****C**

Figura 2.12 Condiciones climáticas en San Cayetano durante: A. 2006; B. 2011; C. 2012. Elaboración propia con interpolaciones (INIFAP, SMN 2013).

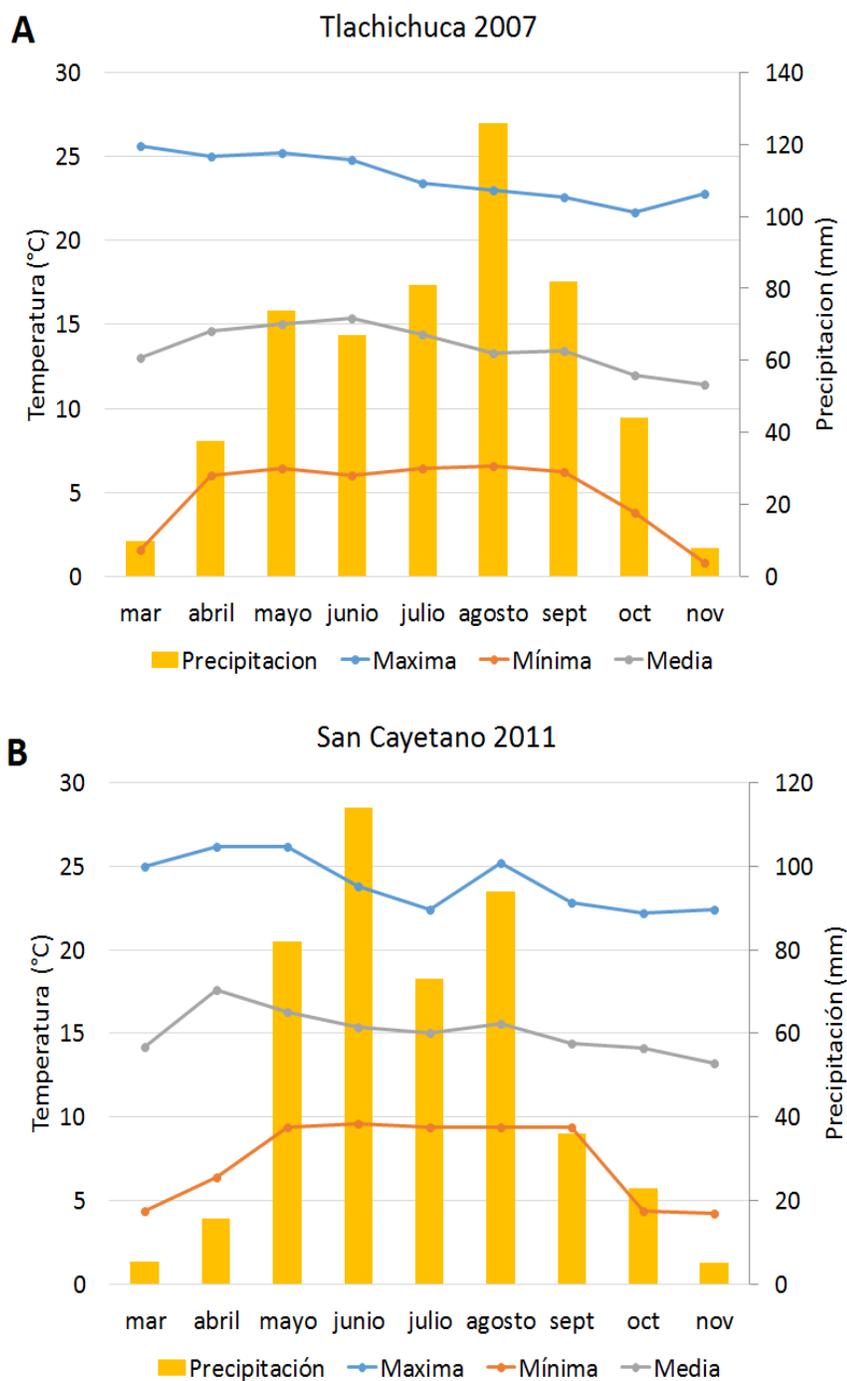


Figura 2.13 Precipitaciones, temperaturas máximas, mínimas y medias en las localidades: A. Tlachichuca en 2007; B. San Cayetano en 2011. Elaboración propia con interpolaciones (INIFAP, SMN 2013).

2.4 Almidón

El almidón es un polisacárido de reserva alimenticia predominante en las plantas. Es una sustancia que se obtiene exclusivamente de los vegetales, lo sintetizan a partir de la radiación solar, del dióxido de carbono que toman de la atmósfera y del agua que absorben del suelo. En el proceso se absorbe la energía del sol y en los cloroplastos de las hojas, a nivel celular se convierte la energía luminosa en energía química, almacenándose en forma de glucosa. Primero, el almidón es producido a nivel foliar, posteriormente se hidroliza y se re-sintetiza en frutos, tubérculos y semillas. El almidón está constituido por moléculas largas de glucosa, estas pueden llegar a tener hasta 100 000 unidades (Tester *et al.* 2004).

2.4.1 Fuentes globales de almidón

En este tópico se observa escasez de estadísticas. En el año 2000, Estados Unidos produjo más de la mitad del total de la producción mundial de almidón y, al igual que otras regiones de primer mundo, utilizó el maíz como principal materia prima. En cambio, casi la mitad de la producción de almidón de la Unión Europea (UE) procedió del maíz (ver Cuadro 2.3), pero en esta región las materias primas predominantes para producción de almidones fueron el trigo y la papa, las cuales ocuparon el primer lugar. Junto a éstos, la yuca como materia prima (que se produce principalmente en el sudeste asiático) son las especies que tienen importancia a nivel mundial (LMC International 2002).

Cuadro 2.3 Producción anual de almidón por materia prima en la Unión Europea, Estados Unidos y otros países en el año 2000.

	Maíz	Papa	Trigo	Otras	Total
	(millones de toneladas)				
UE	3.9	1.8	2.8	0.0	8.4
EE.UU.	24.6	0.0	0.3	0.0	24.9
Otros países	10.9	0.8	1.1	2.5	15.2
Mundo	39.4	2.6	4.1	2.5	48.5

Fuentes: Comisión Europea (DG Agricultura, Unidad C2), Departamento de Agricultura de Estados Unidos y estimaciones de la LMC International (2002).

Entre 1995 y 2000, la parte que representaba la UE en la demanda mundial de almidón pasó de 15.0% a 15.3% y el índice comunitario de crecimiento anual se situó por encima de 4%. Durante la década 2000-2010 se esperaba que la demanda comunitaria de productos de almidón aumentara a un ritmo medio anual inferior a 3% y que con ello se ampliara el mercado de los 7.4 millones de

toneladas del año 2000 a 9.8 millones en 2010. La situación de los mercados es compleja. En la UE los costos de la fécula de papa tuvieron aumentos no sólo por los insumos sino por la imposición de cuotas de producción de tal forma que su mercado no es favorable (LMC International 2002). A nivel comunitario (Unión Europea) el almidón que es más producido es el de trigo, aunque el de maíz ha ido creciendo lentamente. Una de las ventajas que posee el mercado del almidón de trigo es que cuenta con subproductos valiosos que son aprovechados, como el gluten y el salvado, lo cual no se presenta en la fécula de papa. Los costos netos de producción más bajos en la comunidad son del trigo seguidos del maíz, y los costos más altos son los de producción de almidón de papa, según varios números de *Starch and Fermentation Analysis* y estimaciones de la LMC Internacional (2002).

En relación a los productos que compiten en la industria de alimentos con los almidones naturales, durante la década de los 90's, el mercado que más experimentó alza absoluta fue el de jarabes de glucosa y derivados, aunque en este tiempo fueron los almidones modificados los que presentaron un mayor índice de crecimiento. Los almidones naturales fueron los que presentaron un crecimiento más lento, al pasar de 2 a 2.5 toneladas por año (LMC International 2002). Aunado a dicho panorama se aprecia que el mercado de almidón de leguminosas, del grupo de almidones naturales, aún no posee una gran demanda, como se observa en la Figura 2.14 A, donde se ejemplifica las principales fuentes de almidón y el consumo por país de almidón, a nivel mundial (Figura 2.14 B). Sin embargo, presenta ventajas comparativas sobre todo en la industria alimenticia, en comparación a los almidones que actualmente predominan en el mercado (Guillon y Champ 2002). Una de los aspectos que han desencadenado más críticas en recientes estudios es el índice glucémico, que en el caso de jarabes de glucosa y sus derivados, almidones de maíz, y sobre todo almidones modificados, se ha constatado que tienen índices glucémicos muy altos, en comparación con los almidones de leguminosas (Hildebrandt y Marlett 1991; Granfeldt *et al.* 1992; Björck *et al.* 1994; Tovar 1996; Brighenti *et al.* 1998; Seewi *et al.* 1999). Por tales motivos no se descarta un futuro prometedor en la industria alimenticia para el almidón de leguminosas.

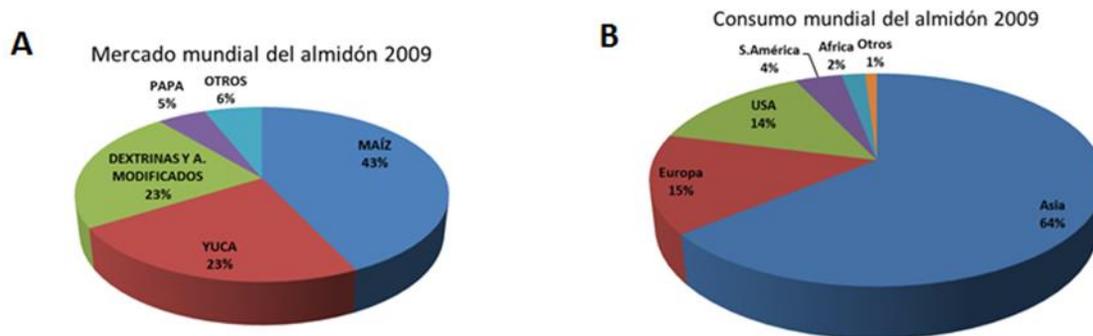


Figura 2.14 Mercado mundial del almidón; B. Consumo a nivel mundial del almidón durante 2009. Fuente: FAOSTAT (2009).

2.4.2 Potencial de las fracciones obtenidas de la extracción de almidón

Proteínas y fibras son las principales fracciones que son obtenidas al mismo tiempo durante la extracción del almidón de la mayoría de leguminosas, mediante procesos en seco o en húmedo. Los procesos de fraccionamiento en seco resultan más económicos por el menor gasto de energía y agua; sin embargo, las fracciones no poseen gran pureza y están contaminadas principalmente de α -Galactósidos (Sahasrabudhe *et al.* 1981). Las fracciones en estado puro pueden ser utilizadas como ingredientes simples, ingredientes tecno-funcionales, o aditivos en la industria de los alimentos procesados, brindándoles una mejor calidad nutricional (Kozłowska *et al.* 1998; Czukur *et al.* 2001). Algunas investigaciones han demostrado un gran potencial de las fracciones extraídas de los carbohidratos de leguminosas, se han hecho numerosos estudios con soya y chícharo de los cuales la fibra extraída ya está disponible de forma comercial (Kozłowska *et al.* 1998). La composición de la fibra extraída puede variar de acuerdo a su origen; la mayor proporción se encuentra en la testa, las fibras de la testa son más ricas en celulosa, lo que las hace aptas como aditivos en productos que requieren hornearse o extrudirse, ya que únicamente confieren mayor contenido de fibra sin alterar propiedades técnicas. Las fibras del cotiledón están principalmente formadas de restos de paredes celulares constituidos principalmente de sustancias pépticas (derivadas de la pectina) lo que las hace útiles como agentes de texturizado, se caracterizan por ser ligantes tanto de agua como de lípidos, esto evita la migración de los compuestos de los alimentos preparados, brindan estabilidad a la textura lo que es más deseable durante el almacenamiento (Brillouet y Riochet 1983; Weightman *et al.* 1994; van Laar *et al.* 1999). En la medida que estas fibras que son de origen natural sustituyan aditivos artificiales, conferirán ventajas en el mercado

de tal producto por presentar una ‘fórmula más limpia’, ya que se ha demostrado que el consumo de este tipo de fibras en los alimentos tiene impactos positivos en la lipemia (alto contenido de grasa en sangre), tolerancia a la glucosa y excreción fecal (Kabir *et al.* 2000). Esto se ha comprobado en experimentos realizados con cantidades de fibra relativamente altas, en comparación con la cantidad común de la dieta actual del ser humano (Guillon *et al.* 2002), lo que reafirma la necesidad del aumento de este componente en nuestra dieta.

Por otro lado, los almidones provenientes de leguminosas tienden a poseer un mayor contenido de amilosa en relación con los almidones provenientes de cereales y tubérculos, lo que les confiere una menor biohabilidad que la mayoría de los almidones, cuando están crudos o retrógrados, metabólicamente esto repercute en un menor índice glucémico que los almidones comunes (Hildebrandt y Marlett 1991; Granfeldt *et al.* 1992; Björck *et al.* 1994; Tovar, 1996; Brighenti *et al.* 1998; Seewi *et al.* 1999). El tipo de difracción de rayos X reportado en la literatura para *Vicia Faba* L. es del tipo C, considerado intermedio entre A (menor proporción de amilosa) y B (mayor proporción de amilosa) (Colonna y Champ 1990). El bajo índice glucémico de estos almidones también es calificado como un elemento benéfico a la salud, sobre todo para la prevención de enfermedades relacionadas con la resistencia a la insulina. Adicionalmente, cuando este almidón está parcialmente retrógrado, pueden proveer cantidades significativas de butirato al epitelio del colon lo cual ayuda a prevenir el cáncer (Guillon *et al.* 2002).

2.4.4 Usos y comparación de almidones de varias fuentes

Aunque no existe mucha documentación acerca del uso específico de almidón de *Vicia faba* L., en otras especies, como el almidón de los chícharos, es ya utilizado en platillos congelados, postres, productos horneados y extruidos, sopas instantáneas y pudines (Kozłowska *et al.* 1998). El almidón de leguminosas podría ser también utilizado para fines no alimenticios, como la industria del papel, manufactura de detergentes, tratamiento de aguas industriales, textiles, plásticos y productos farmacéuticos como agente encapsulador.

En cuanto a la fermentación de almidones, este proceso se utiliza para obtener principalmente etanol y más recientemente ácido poliláctico para la elaboración de productos 100% biodegradables (Lunt 2000). Para que un almidón se considere apto como materia prima de ácido poliláctico en la industria, se considera indispensable (como es el caso del que se obtiene del

maíz) que tenga un alto grado de pureza, y que sea céreo; es decir, que contenga menos de 1 % de amilosa (Lunt 2000).

Por otra parte, se ha señalado que los almidones nativos de legumbres han sido usados de manera restringida en la industria de alimentos debido a las características que presentan, como la inestabilidad bajo condiciones de procesamiento (calentamiento, bombeo, pH bajos), la tendencia a la retrogradación y la poca estabilidad cuando se rompe la cadena de frío y se someten a ciclos de congelación y descongelación.

La fracción amilácea de muchas leguminosas representa hasta el 60% del gránulo (Naivikul y D'Appolonia 1978), por lo cual es conveniente disponer su uso en alimentos, y en la actualidad los almidones ricos en amilosa ya están siendo más valorados en la industria alimenticia, por conferir espesor y textura, adhesión a superficies impermeables, y sobre todo, como fuente de carbohidratos de más lenta digestión, lo cual confiere ventajas comparativas en términos de salud con los almidones modificados y de uso común en la industria (Keeling y Myers 2010).

En cuanto a alteraciones químicas en algunas investigaciones se indica que la acetilación es una buena opción para modificar el almidón, ya que aumenta la viscosidad, el poder de hinchamiento y la solubilidad, y disminuye la temperatura de gelatinización. Comer y Fry (1978) encontraron que la acetilación incrementa la estabilidad de los almidones de leguminosas, a bajas temperaturas de almacenamiento (López 2001). La presencia de proteína en la fracción amilácea del almidón de haba desestabiliza los geles formados, haciéndolos susceptibles al fenómeno de sinéresis. La acetilación reduce la tendencia del almidón a retrogradar, lo que aumenta considerablemente sus posibilidades de uso. La acetilación del almidón de haba con anhídrido acético induce cambios favorables en las propiedades funcionales y reológicas de este polisacárido, el cual podría ser utilizado como aditivo para alimentos, especialmente en postres y productos congelados. El efecto combinado de secado en rodillos y acetilación mejora las propiedades nutricionales del almidón de haba para uso en la industria de los alimentos (López 2001).

Hoy en día se están intensificando los estudios para entender la bioquímica y genética con mayor exactitud en la biosíntesis del almidón, y así tener al alcance con herramientas de biotecnología, la posibilidad de poder controlar y 'diseñar' almidones que sean más funcionales y producidos racionalmente para evitar costos y daños al ambiente por tratamientos químicos en la post-cosecha (Tetlow 2010).

El almidón de chícharo arrugado presenta propiedades funcionales favorables para producir bioplásticos debido principalmente a su contenido de amilosa (Funke y Lindhauer 1994; Colonna *et al.* 1995). Los almidones de maíz dulce también son ricos en amilosa, desde 50% hasta 82%, lo cual también le confieren propiedades favorables para la industria del plástico, celofán, y películas (IICA-Prociandino 1995). Por otro lado, algunas variedades “waxy” de maíz solo están compuestas de amilopectina, son variedades modificadas con genes derivados de variedades naturales de cebada, maíz, arroz, y sorgo; éste tipo de almidón puede ser empleado en rellenos de pasteles ya que requieren gelificar, o gelatinizar pero no espesar (Zhao *et al.* 1994). En el Cuadro 2.4 se observan las principales características de los almidones comunes.

Cuadro 2.4 Algunas características de almidones de leguminosas comparadas con otros almidones.

Especie	P.D. rayos-X	Amilosa (%p.s.)	Temperatura Gelatinización (°C)	Referencias
<i>Psium sativum</i> (Chícharo Liso)	c	31-35	55-65	Colonna y Mercier (1985), Colonna y Champ (1990)
<i>Psium sativum</i> (Chícharo Arrugado)	b	66-72	55-125	Colonna y Mercier (1985)
<i>Phaseolus vulgaris</i>	c	33-35	-	Colonna y Mercier (1990)
<i>Lens esculenta</i>	c	-	95	Colonna y Mercier (1985)
<i>Cicer arietinum</i>	c	23.0-27.8	60.1– 67.3	Meares <i>et al.</i> (2001), Soral-Šmietana <i>et al.</i> (2001)
<i>Vicia faba</i>	c	24	97	Duprat <i>et al.</i> (1980), Colonna y Champ (1990)
<i>Triticum aestivum</i>	a	22.7	82-94	Colonna y Mercier (1990), Soral-Šmietana <i>et al.</i> (2001)
<i>Zea mays</i> (normal)	a	22.1	55-70	Colonna y Mercier (1985), Soral-Šmietana <i>et al.</i> (2001)
<i>Solanum tuberosum</i>	b	25.0	66-90	Colonna y Mercier (1990), Soral-Šmietana <i>et al.</i> (2001)

Fuente: Guillon *et al.* (2002). P.D. = patrón de difracción.

El patrón de difracción de rayos-X refleja principalmente la constitución del gránulo de almidón en cuanto a su polimorfismo, el tipo A presenta un patrón de polimorfismo con una proporción relativamente menor de amilosa, es característico de gránulos más compactos escasamente hidratados cuyas longitudes promedio de cadena son cortas (como el trigo); el tipo B presenta un patrón con contenidos que pueden ser más altos en amilosa, pero sobre todo, mayor contenido de moléculas de agua intercaladas y con una estructura más abierta (algunas

frutas y tubérculos crudos); el C representa una mezcla de patrones A y B (chícharo, haba, algunos frutos).

2.4.5 Estudios realizados con almidón de leguminosas en animales

Se han realizado estudios para avalar el bajo índice glucémico del almidón nativo de leguminosas. En un estudio realizado con puercos alimentados, por un lado con almidón nativo de maíz, y por otro, con almidón nativo de chícharo, se pudo comprobar que la digestión en el intestino delgado fue similar (Kozłowska *et al.* 1998). Sin embargo, el flujo neto de glucosa en la vena porta (vena que acarrea sangre rica en nutrientes del estómago al hígado) fue menor en el caso de puercos alimentados con almidón de chícharo. Se comprobó que a un corto plazo postprandial el flujo de glucosa en la porta era mucho mayor para el caso del almidón de maíz, pero al cabo de 8 horas postprandiales, el flujo de glucosa fue significativamente mayor en el caso del almidón de chícharo (Van der Meulen *et al.* 1997).

Metabólicamente en el organismo de éstos animales ocurrieron diferencias durante la digestión de ambos almidones, y esto se explica porque el almidón de maíz común posee un mayor índice glucémico que el almidón de chícharo (por su proporción de amilosa, la cual es inferior que en el chícharo). En el caso del almidón de maíz utilizado, la mayor proporción de amilopeptina en su composición provocó una más fácil gelatinización en el estómago, en la medida que un almidón es gelatinizado más fácilmente, las enzimas digestivas principalmente las amilasas pancreáticas actúan fácilmente también, desencadenando una rápida absorción de glucosa en sangre a través del intestino delgado. Entonces, ocurre un alza en la concentración de glucosa en la sangre en mayor grado y de forma más súbita. Como es sabido, para regular un aumento súbito en la concentración de glucosa postprandial, el páncreas reacciona con una mayor secreción de insulina, esto es un detalle que merece atención y que confiere una desventaja metabólica (e incluso de salud a largo plazo) primeramente a corto plazo, se aumenta la posibilidad de sufrir hipoglucemia momentánea (sueño postprandial), situación que a nivel humano dificulta el desempeño provocando la sensación no tener energías. Por otro lado, la concentración portal de glucosa en la sangre para el almidón de chícharo fue mucho más baja desde un principio, y presentó una mayor duración y regularidad. También fueron medidos los flujos de ácidos grasos de cadena

corta (entre los que se encuentra el butirato), el flujo neto en la vena porta de éstos fue mayor en los cerdos alimentados con almidón nativo de chícharo (Van der Meulen *et al.* 1997).

Se realizó otro estudio en ratas alimentadas con almidón nativo de *Phaseolus aureus*, y maíces céreos, para comprobar un bajo y un alto índice glucémico, respectivamente. Después de 12 semanas, se detectaron concentraciones de leptina y mRNA OB en plasma mayores en el grupo alimentado con el almidón de *Phaseolus*, cuyo índice glucémico es menor. Una de las funciones de dichas proteínas es la de evitar la lipogénesis desequilibrada o aumento de grasa corporal en exceso. Por lo que al parecer las dietas con alto IG afectan la sensibilidad de esta proteína en sangre desencadenando una mayor lipogénesis, entonces este tipo de dietas a largo plazo pueden desencadenar serios problemas de salud (Kabir *et al.* 2000).

También se llevó a cabo un estudio con almidón de *Phaseolus aureus*, almidón de maíz, y glucosa pura en humanos, para evaluar el índice glucémico. Se cuantificó el incremento neto de glucosa post-hepática o postprandial en plasma después de ingerir estos diferentes alimentos. Los índices glucémicos¹ para maíz fueron de 95 (± 18), y para *Phaseolus aureus* de 51 (± 13). Las concentraciones de glucosa post-hepática para glucosa, maíz y *P. aureus* fueron de 79.4 (± 5), 72.6 (± 4), y 35.5 (± 4.6) respectivamente, en un registro post-prandial de 4.5 horas. Las diferencias fueron atribuidas a que el almidón de *Phaseolus* posee 11% de almidón resistente y que al cabo de 4.5 horas probablemente éste aún no había terminado de ser digerido (Lang *et al.* 1999)

2.4.6 Biosíntesis de almidón en plantas superiores

Aunque la mayoría de las investigaciones sobre síntesis del almidón no han sido tan específicas para las leguminosas como el haba, el proceso de síntesis de almidón en la naturaleza es similar en todas las plantas superiores o traqueofitas. El almidón es un polisacárido de reserva alimenticia presente exclusivamente en las plantas. La función principal de este mecanismo es el de fabricar reservas de energía para sobrevivir en el medio y sólo las células vegetales de plantas superiores, de musgos, helechos y de algunos microorganismos (cianobacterias y algas) son capaces de realizarlo (Klucinec *et al.* 2005).

¹ Las unidades de los índices glucémicos se interpretan como porcentajes de áreas bajo la curva, tomando como 100% el área bajo la curva de la glucosa pura ingerida, se presenta la cantidad de glucosa plasmática en mg/dL en eje Y, y en el eje X el tiempo transcurrido en minutos y horas para un tiempo dado (Jenkins *et al.* 1981).

El proceso tiene origen antiguo, pues existe en organismos primitivos como cianobacterias, algas rojas y verdes, cuya existencia se remonta hasta hace 1500 millones de años (Deschamps *et al.* 2008). Se sintetiza a partir de la radiación solar, del dióxido de carbono atmosférico y del agua que absorben del suelo. En el proceso se absorbe la energía del sol y a nivel celular, por medio de los cloroplastos, se convierte la energía luminosa en energía química, almacenándose en forma de azúcares (Klucinec y López 2011).

La biosíntesis de gránulos de almidón se hace presente en el citoplasma de las algas rojas o rodofitas y glaucofitas, mientras que en algas verdes y plantas superiores o traqueofitas la formación de gránulos se limita en el estroma de plastidios celulares que se nutren heterotróficamente llamados cloroplastos en el caso del almidón transitorio (en células foliares, de tallos y raíces en plantas superiores) o amiloplastos (células de semillas, tubérculos o frutos en plantas superiores) (Dauville'e *et al.* 2009). Por lo anterior existe la hipótesis de que el proceso evolutivo se dio por la ocurrencia de un proceso de endosimbiosis (Cavalier-Smith 2009).

2.4.6.1 Síntesis de almidón transitorio y de sacarosa

A consecuencia del proceso fotosintético las plantas transforman durante el día la energía que obtienen del entorno, sintetizando y almacenando almidón transitorio en cloroplastos de hojas, tallos y raíces, para ser degradado en la noche. Los productos resultantes de la degradación del almidón transitorio son principalmente azúcares neutrales como glucosa y maltosa, y son translocados al citoplasma donde ocurre el metabolismo de azúcares neutrales (intervienen las enzimas hexoquinasa, fosfoglucomutasa y transglucosidasa que utilizan glucanos de alto peso molecular como receptores o donadores glucosídicos transitorios) parte del almidón transitorio es también resintetizado en los amiloplastos. Lo que resulta de la degradación del almidón transitorio se transportan vía floema a partes no fotosintéticas durante la noche para sostener el metabolismo de la planta.

Paralelamente, la sacarosa también es sintetizada en los cloroplastos para ser transportada a partes no fotosintéticas vía floema (Klucinec y Keeling 2005). La síntesis de sacarosa, es esencial en el metabolismo de las plantas, y es principalmente destinada para la síntesis de paredes celulares (celulosa), para la respiración, y propiamente como reserva para producir almidón y otros polisacáridos en la planta. La sacarosa es un disacárido de glucosa + fructosa, cuya unión es un

enlace glucosídico entre el C1, grupo aldehído de la glucosa y el C2, grupo cetónico de la fructosa. La síntesis de sacarosa es parecida a la síntesis de almidón en los cloroplastos, pues ambas parten de triosas fosfato provenientes del ciclo de Calvin y pasan a fructosa 1, 6-bifosfato, después a fructosa 6-fosfato, y por isomerización a glucosa 1-fosfato. El exceso de triosas fosfato que no son utilizadas para producir sacarosa, se utilizan para sintetizar almidón como reserva en el estroma del cloroplasto. La diferencia de la síntesis de sacarosa con la síntesis de almidón es que para la síntesis de sacarosa se forma UDP-glucosa y para síntesis de almidón se forma ADP-glucosa, ambas en el cloroplasto. La UDP-glucosa (formada por la enzima UDP-glucosa pirofosforilasa), se une a la fructosa 6-fosfato, obteniendo sacarosa fosfato, una fosfatasa quita el fosfato, y se obtiene sacarosa. Enzimas clave en la síntesis de sacarosa son la fructosa 1, 6-bifosfatasa, que regula en función de las necesidades de las plantas, y sacarosa fosfato sintasa, que regula la velocidad de síntesis (Lehninger, 2007).

2.4.6.2 Almidón de reserva a largo plazo en semilla

En la época reproductiva de la planta, después de la floración y pocos días después de la polinización (en caso de cereales de 12 a 35 días después de la polinización), los tejidos de los órganos de almacenamiento en donde comenzará la biosíntesis de almidón a largo plazo, para entonces contienen un determinado número de células (según la especie) ya diferenciadas, y con las enzimas necesarias para el llenado del grano ya acumuladas (incluyendo enzimas tanto para almacenamiento de carbohidratos como de proteínas, y metabolismo de aminoácidos para tal especie). En caso de los cereales, la mayor parte de síntesis de almidón se lleva a cabo en el endospermo, y en menor proporción en pericarpio y embrión (Keeling y Myers 2010). Entonces ocurre la importación de sacarosa a nivel citosol, y comienza propiamente la biosíntesis de almidón en el citoplasma de las células de almacenamiento, culminando en los amiloplastos de dichas células, esto se da bajo patrones de expresión coordinada de las enzimas involucradas (DuPont 2008).

El patrón que determina en mayor grado la eficiencia de la especie de conversión a almidón, es el de biosíntesis de almidón a partir de la importación de sacarosa que involucra el metabolismo de azúcares de fosfato resultando en hexofosfatos; además hay un patrón en el que también se sintetiza almidón obtenido de la importación de hexofosfatos al endospermo utilizando otras

enzimas específicas (esto en caso de cereales). Otro proceso metabólico que se lleva a cabo en el citosol de la célula del endospermo, es el metabolismo de azúcares nucleótidos, en el cual se producen principalmente glucosa 1-fosfato, y nucleótidos trifosfatos (inciso b, Cuadro 2.5). El almidón sintetizado en las semillas es el que se destina a mantenerse a un plazo mayor, pues el que es producido en tubérculos, podría ser reutilizado por la planta en caso de que las condiciones del ambiente así lo requieran (Tetlow 2010).

En todo el proceso de síntesis, cada especie posee un grado de eficiencia en la utilización de la luz solar para realizar la conversión a biomasa, que en combinación con el índice de cosecha se asciende a una cantidad determinada de almacenamiento de almidón ya sea en semillas, tubérculos o frutos (Klucinec y Keeling 2005). En el caso del haba el peso y número de granos, así como el número de vainas por planta (incluso el cultivar seleccionado) son parámetros decisivos en el rendimiento de carbohidratos y por tanto de almidón extraíble y para esto es importante que en las fases reproductivas el cultivo no presente estrés que reduzca la tasa fotosintética, sea por déficit hídrico, o cuestiones de nutrición y temperatura (Pichardo-Riego *et al.* 2013).

Las semillas maduras contienen un importante porcentaje de almidón en el endospermo, en el caso del haba se logra extraer almidón del grano sin testa en una proporción de alrededor de 30% de materia en húmedo (Silva *et al.* 2007). La humedad presente en los órganos de almacenamiento de almidón varía según su ubicación. Durante el proceso de maduración de una semilla o grano, la humedad varía entre 10 y 20%, mientras que la humedad en el proceso de maduración de tubérculos varía de 50 a 80%, aunque en el momento de la deposición del almidón tanto de tubérculos como de semillas, la humedad es relativamente similar y varía de 60 a 90% (Keeling y Myers 2010).

2.4.6.3 Bioquímica del almidón en semilla

No se tienen referencias de la síntesis de almidón específicamente en el cultivo de haba, como se ha mencionado, el proceso es muy semejante en todas las plantas superiores. La mayoría de estos estudios se han enfocado en maíz. Metabólicamente el proceso de síntesis de almidón es complejo y aunque se han logrado grandes avances, aún se sigue investigando para lograr descifrar todas las claves que influyen en la arquitectura, tipo, y proporciones de los enlaces glucosídicos del almidón de cada especie, o bien, lo que determina la proporción de amilosa/amilopectina. Se

continúan investigando las relaciones entre los genes y las enzimas que desencadenan las frecuencias, tamaños y distribución de las ramificaciones que dan lugar a los enlaces glucosídicos α 1-6, en alternancia con los α 1-4. Una de las técnicas más utilizadas recientemente es la ingeniería PHYRE (Ingeniería de reconocimiento de proteínas homólogas y análogas) que utiliza algoritmos para crear juegos o empalmes de secuencias proteínicas que conllevan a predecir secuencias secundarias de proteínas a partir de una secuencia conocida, aun siendo ésta remotamente homóloga (Kelley y Sternberg 2009). Hasta ahora se han logrado reconocer una serie de secuenciaciones proteínicas que han sido registradas en bases de datos especiales como PDB, PFAM, CAZY, BRENDA, SCOP (Finn *et al.* 2008; Chang *et al.* 2009). Aunque se ha logrado descifrar el 100% de los plegamientos en estructuras proteínicas, existe todavía variación en las estructuras primarias debido a que durante la síntesis de almidón las enzimas carecen de una topología definida, por no estar cristalizadas (Keeling y Myers 2010). Como se mencionó en el apartado anterior, enseguida de la época reproductiva, pocos días después de la polinización, cuando las células ya están diferenciadas, comienza en las semillas la síntesis de almidón de reserva de largo plazo. En células del endospermo principalmente, se lleva a cabo la importación intracelular de sacarosa (transportada vía floema), logrando la mayor proporción de la síntesis de almidón en endospermo mediante la conversión enzimática de sacarosa a éste, por medio de enzimas codificadas en el núcleo dichas células. En otro patrón o secuencia bioquímica, también se importan hexofosfatos al endospermo. En el citoplasma de células del endospermo también se lleva a cabo el metabolismo de azúcares nucleótidos (Keeling y Myers 2010). Aunque el metabolismo de biosíntesis de almidón en las semillas es complejo y aun no se han descifrado detalles, esencialmente la sacarosa es transportada a células del endospermo y metabolizada produciéndose hexofosfatos (inciso a) Cuadro 2.5), éstos son convertidos fácilmente a isoglucosa isomerasa y fosfoglucomutasa en procesos que incluyen glucolisis, una especie de reciclaje y otros patrones metabólicos (Keeling *et al.* 1988; Glawischnig *et al.* 2002). Posteriormente la glucosa 1-fosfato es convertida a ADP – Glucosa, este producto es considerado como el primer paso en la síntesis del almidón, y se da en el citoplasma de las células del endospermo (en el caso del maíz), este paso es catalizado por la enzima AGPP. En cereales hay dos clases de AGPP, una se encuentra en células del endospermo y produce ADP-Glucosa como resultado del metabolismo de sacarosa importada; y la segunda AGPP que actúa en un patrón diferente, produce ADP-Glucosa pero a partir de hexofosfatos importados. Para leguminosas como el haba no se ha comprobado si la

enzima AGPP se encuentra tanto en el citoplasma de las células del endospermo, como dentro de sus amiloplastos, o exclusivamente en los amiloplastos de éstas como en el caso de otras especies ricas en almidón distintas a los cereales (Comparot-Moss y Denyer 2009). El desarrollo del endospermo se divide en fases: cenocítica, celularización, diferenciación, síntesis de reservas y maduración del grano. En la primera fase hay desarrollo de múltiples núcleos en una sola célula, cuatro días después de la polinización ocurre la formación de las paredes celulares, la división celular continúa hasta 20 días después de la polinización. La síntesis propia del almidón en el grano ocurre de los 12 a los 35 días después de la polinización. Finalmente ocurre la maduración en la cual principalmente hay pérdida de humedad (Olsen 2001). El llenado del grano ocurre dentro de un patrón de expresión coordinada de enzimas codificadas por genes nucleares, algunas de las principales enzimas se mencionan en el Cuadro 2.5 incisos c), d) y e), En tales patrones se presenta una curva de agudo aumento de actividad, culminando con un decremento gradual (Keeling y Myers 2010).

Cuadro 2.5 Enzimas que participan en el metabolismo y síntesis del almidón.

Enzima	Jerarquía (Superfamilia/familia)	Función / Producto	Características
a) Metabolismo de azúcares de fosfato (a partir de sacarosa, en citosol en células del endospermo)			
SUS (sacarosa sintetasa)	Superfamilia GT-5	Fragmentación de la sacarosa en sus residuos fructosa y UDP-Glucosa, y formación de sacarosa a partir de fructosa y azúcares nucleótidos. Su acción es reversible.	En las plantas existen muchas isoformas que pueden diferir en tiempos de expresión y localización en tejidos.
FRK (fructoquinasa)	Superfamilia ATPasa, familia Hexoquinasa.	Formación de fructosa 6-fosfato a partir de fructosa y ATP. Su acción es irreversible.	Posee dos dominios altamente conservados: Hexoquinasa 1 y Hexoquinasa 2. Isoformas FRK1 y FRK2. (Kuser <i>et al.</i> 2000).
PGI (Fosfoglucosa isomerasa)	Superfamilia SIS (Bateman 1999), familia PGI (Davies y Muirhead 2002).	Cataliza la interconversión de fructosa 6-fosfato y glucosa 6-fosfato.	Posee una fosfo-azúcar en el borde de su dominio. En plantas posee las isoformas PGI1 y PGI2.
PGM (fosfoglucomutasa)	Pertenece a la superfamilia CL0108	Cataliza la isomerización reversible de glucosa-1-fosfato y glucosa-1-6 fosfato.	Conserva regiones que incorpora los dominios PGM1, PGM2, PGM3, PGM4 (PF02878, PF02879, PF02880, Y PF00408, respectivamente (Liu <i>et al.</i> 1997). Posee al menos 2 isoformas, PGM1 y PGM2.
b) Metabolismo de azúcares nucleótidos (citosol de células del endospermo)			
UGPP (UDP-glucosa pirofosforilasa)	Superfamilia GT-A	Formación de glucosa-1-fosfato y un nucleótido trifosfato a partir de UDP-Glucosa.	Conservan una región catalítica con un nitrógeno terminal, pero con la incorporación del dominio de una nucleotidil transferasa unida a un carbón terminal con una estructura β -hélice paralela envuelta en una cooperativa región alostérica y una subunidad de oligomerización (Jin <i>et al.</i> 2005; McCoy <i>et al.</i> 2007)
AGPP (ADP-glucosa porofosforilasa)	Superfamilia GT-A	Formación de glucosa-1-fosfato y un nucleótido trifosfato a partir de ADP-Glucosa.	Posee propiedades altamente reguladoras en las plantas. Forma heterotetrámeros constituidos de dos subunidades cortas y dos largas que son homólogas (Ballicora <i>et al.</i> 2004). Se han hallado variantes (maíz) con funciones termoreguladoras, inhibitoras

Enzima	Jerarquía (Superfamilia/familia)	Función / Producto	Características
			de Pi, reguladora de actividad de 3-PGA (Boehlein <i>et al.</i> 2005).
c) Proteínas transportadoras en amiloplastos			
GPT (Translocador de glucosa fosfato) (Kammerer <i>et al.</i> 1998)	Se relaciona con la superfamilia CL0015 que se constituye por transportadores de membranas	Transporta glucosa 1-fosfato y glucosa 6-fosfato, producidas en el citoplasma de células del endospermo hacia los amiloplastos de las mismas.	En maíz se ha predicho que tiene la misma estructura que la proteína lactosa permeasa (Mizra <i>et al.</i> 2006).
AGT (Translocador de ADP-glucosa). En maíz es conocida como BT1. (Sullivan <i>et al.</i> 1991).	Familia PF00153, miembro de los acarreadores mitocondriales (Patron <i>et al.</i> 2004, Tjaden <i>et al.</i> 2004)	Se localiza en la membrana del amiloplasto y se ha demostrado que es requerida para el ingreso de ADP-glucosa al amiloplasto (Shannon <i>et al.</i> 1998).	Su estructura consiste de más de tres repeticiones en tándem de un dominio de aproximadamente 100 residuos cada uno y con dos regiones transmembranales.
d) Síntesis de glucanos α-1,4			
	Superfamilia GT-B (CL0113); SS familia GT-5; SP familia GT-35 (Liu y Mushegian 2003).	Sintetizan glucanos α -1,4. Catalizan la transferencia de moléculas de azúcar desde un donador activo a otra molécula receptora específica. Catalizan la formación de enlaces glucosídicos α -1,4 utilizando como sustrato tanto ADP-glucosa (SSs) como glucosa-1-fosfato (SP) que actúan como donadores. Las SSs se relacionan con la síntesis de almidón soluble.	Todas éstas poseen el mismo plegamiento total. Las SS poseen 5 tipos en plantas vasculares y algas, GBSSI* (asociada solo a gránulos de almidón), SSI, SSII, SSIII, SSIV (Li <i>et al.</i> 2003, Leterrier <i>et al.</i> 2008).
	Familia GT-5 (asociada solo a gránulos de almidón)	Variedades mutantes con carencia de amilosa carecen de la proteína GBSSI, por lo que parece ser que es la responsable exclusiva de la síntesis de amilosa en maíz (Denyer <i>et al.</i> 2001). Posee la habilidad de elongar el crecimiento de las cadenas de glucanos progresivamente. Su actividad depende de la	Se encuentran isoformas análogas altamente similares, codificadas por distintos genes, en endospermo y hojas de arroz y algunas otras especies (Denyer <i>et al.</i> 2001). Al realizar los enlaces en la cadena de glucanos, esta enzima no necesariamente se disocia del sustrato sino que permanece para seguir adicionando unidades de glucanos. Esto también lo realiza en cadenas de amilopectina, por lo

Enzima	Jerarquía (Superfamilia/familia)	Función / Producto	Características
		presencia de bajas concentraciones de malto-oligosacáridos (Denyer <i>et al.</i> 1999).	que las variedades mutantes 100% amilopectina tienen ésta alterada por ausencia de la enzima.
SS (Almidón sintasa) **	GT-5	SS (almidón sintasa), SP (almidón fosforilasa)	Está presente tanto en amiloplastos como en el estroma de los cloroplastos donde se clasifican los gránulos del almidón. Se han identificado 4 tipos de SS en diferentes especies (SSI, SSII, SSII, SSIV), influyen de manera importante en la síntesis de amilopectina.
e) Síntesis de glucanos con enlaces α-1,6.			*GBSSI
SBE (Enzima de ramificación de almidón)	SBE y DBE, Superfamilia CL0058, Familia GH13	Para formar este tipo de enlaces se requiere realizar la hidrólisis del enlace α -1,4(DBE) para introducir en el punto de catalización el enlace α -1,6 (SBE).	Las SBE poseen múltiples regiones altamente conservadas, en su estructura incorporan dos regiones de carbohidratos (CBM48), así como un dominio de α -amilasa (Abad <i>et al.</i> 2002), poseen un N- terminal y un C lo que influye en la selectividad a su sustrato (longitud de cadena)(Kuriki <i>et al.</i> 1997). En plantas existen dos clases, SBEI y SBEII y mutantes. Se cree que también tienen papel en la síntesis de amilosa pues ésta presenta ligeras ramificaciones.
DBE (Enzima de separación de ramificaciones de almidón)			Las DBE sólo incorporan en su estructura una región de CBM48, además del dominio de α -amilasa (Katsuya <i>et al.</i> 1998). Se encuentran en órganos de almacenamiento.

Fuente: Elaboración propia con información de Keeling *et al.* (2010).

2.4.6.4 Gránulos de almidón

Los amiloplastos son plastidios celulares (al igual que los cloroplastos) pero con la función de almacenamiento de almidón a más largo plazo (Liu y Mushegian 2003). También llamados gránulos de almidón (ya extraídos), son contenedores de energía perfectos, incluso ya aislados con un adecuado proceso, pueden ser almacenados y transportados (Tetlow 2010). La estructura de un gránulo puede llegar a tener hasta 100,000 unidades de glucosa, con cierta arquitectura en sus ramificaciones glucosídicas dependiendo de la especie. En gránulos de almidón de haba se ha encontrado que los pesos moleculares de la amilosa son entre 100 y 200×10^3 Mw (Haase y Shi 2006). Las células que almacenan estos amiloplastos, a su vez se encuentran almacenadas en tejidos de semillas, tubérculos y frutos (Smith *et al.* 2005; Fettke *et al.* 2009; Sulpice *et al.* 2009).

Los gránulos de almidón poseen un tamaño aproximado de 0.5 a 100 μm , aunque el tamaño y forma depende de la especie de la que son nativos (Jane *et al.* 1994). Éstos son relativamente densos, insolubles y se hidratan difícilmente en agua fría. Pueden ser dispersados en agua, dando lugar a la formación de suspensiones de baja viscosidad que pueden ser fácilmente mezcladas y bombeadas (Tester *et al.* 2004).

Los gránulos de almidón nativos (o extraídos de variedades normales y sin alteración química o genética) son partículas semicristalinas que extraídas forman un polvo blanco; que en su morfología pueden ser esféricos, elípticos y poliédricos. Son químicamente inertes e parcialmente insolubles en agua fría, aunque en condiciones ambientales normales son más bien considerados moderadamente inertes con una pequeña capacidad de absorción de humedad o agua. Cada gránulo está constituido por anillos concéntricos en los que se disponen cadenas ramificadas en espiral de glucosa enlazadas en sus segmentos lineares con una configuración α -1,4, y en puntos de ramificación enlazadas con la configuración α -1,6. Los polímeros que presentan enlaces α -1,6 con poca frecuencia y constituidos por 100 a 10 000 residuos glucanos constituyen segmentos de amilosa; los polímeros que presentan enlaces α -1,6 con mayor frecuencia y regularidad, por tanto más ramificaciones (cada 12 a 30 unidades de glucanos), conteniendo de 10 000 a 100 000 residuos glucanos, constituyen los fragmentos de amilopectina.

Comparativamente con el glucógeno, (fuente energética de animales y humanos en músculos e hígado), éste también está constituido por glucanos con estos dos tipos de enlaces, pero a

diferencia del almidón, el glucógeno posee mucho más ramificaciones, y de manera más uniforme lo que aumentan su solubilidad en el agua (Roach 2002). En cambio las ramificaciones de la amilopectina en el almidón son menores en número y más asimétricas, lo que hace al almidón ser insoluble en agua fría, y estar constituido con una densidad de carbohidratos más alta que el glucógeno (Tetlow 2011).

Dependiendo la especie vegetal de donde provenga el almidón, se da una determinada proporción de amilosa/amilopectina, una determinada estructura de la amilopectina, un determinado tamaño y estructura de la amilosa, y una determinada naturaleza y cantidad de proteína y lípidos. En los almidones naturales más comunes (de cereales y tubérculos) la amilopectina es el mayor componente (70% a 80%), lo que se refleja en proporción directa con el grado de cristalinidad. Existen especies mutantes como en el caso del maíz céreo cuyos gránulos de almidón están constituidos en su totalidad por amilopectina por convenir así a sus fines industriales. Aunque la morfología del gránulo de almidón es similar sin importar la proporción de amilopectina, cabe recalcar que la presencia de ésta es necesaria para la formación normal del gránulo, en cambio la presencia o proporción de amilosa no influye en la formación normal del gránulo de almidón (Keeling y Myers 2010). Estudios que se han realizado en la conformación de la amilosa y la amilopectina sugieren que la amilosa se encuentra adherida de forma intercalada más débilmente a la estructura de la amilopectina pues los polímeros de amilosa suelen ser lixiviados fácilmente del gránulo (Cowie y Greenwood 1957).

2.4.7 Propiedades químicas

2.4.7.1 Almidón total

Los métodos de determinación de almidón total son utilizados para detectar la presencia de almidón, su pureza, o presencia de otros polisacáridos, incluso la alteración de éste. Se pueden agrupar en aquellos que se realizan por hidrólisis ácida, y los que se realizan por método enzimático. Los que se hacen por hidrólisis ácida (mediante solución de ácido sulfúrico) se aplican solo a almidones puros, el nivel de precisión es bajo, y las aplicaciones son limitadas (Anon 1987). En cuanto al contenido de almidón total, en almidones comerciales se encuentra en el rango 92-96 por ciento, valores bajos son indicativos de un proceso de extracción ineficiente (FAO 2007).

La determinación del almidón total por método enzimático requiere de un proceso que básicamente pasa por tres etapas en las que se hidroliza completamente el almidón a glucosa: gelatinización, dextrinización y sacarificación. En la primera ocurre la disolución del almidón, y separación de la amilosa y amilopectina (lixiviación de amilosa); en la segunda prosigue una hidrólisis parcial produciéndose dextrinas (polisacáridos de bajo y alto peso molecular), y en la tercera se hidrolizan totalmente las maltodextrinas a glucosa, completándose el proceso de hidrólisis para finalmente cuantificar la glucosa en relación con la muestra. Bajo la base de éste proceso también inciden los métodos para la determinación de amilosa/amilopectina, almidón resistente, y fibra dietética; dependiendo del tipo de muestra y determinación se establecen distintos pretratamientos, enzimas y concentraciones de éstas, así como distintos pH de incubación (Karkalis 1985; Englyst y Cummings 1988; Knudson 1997).

Un método convencional para detectar la presencia de almidón es realizado mediante la prueba de Yodo (solución de yodo - diyodo disuelto en una solución acuosa de yoduro de potasio), el cual reacciona con el almidón provocando una coloración púrpura intensa, debido a que los iones de Yodo son embebidos dentro de las hélices de amilosa; esto no ocurre de igual forma en las cadenas de amilopectina, que por ser hélices más cortas y ramificadas dan una coloración entre amarilla y anaranjada. Las dextrinas también pueden experimentar cambio de coloración cuando reacciona la solución de yoduro de potasio. La coloración obtenida va a depender del grado de hidrólisis de la molécula. El color púrpura intenso solo se hace presente con el almidón constituido, cuando ya ha sido hidrolizado totalmente a glucosa, la coloración desaparece (Bolaños 2003). Este método se considera inexacto sobre todo cuando se realiza determinación de amilosa/amilopectina, pues se tienen que hacer correcciones, y existe el riesgo de una sobrestimación de amilosa tanto en los métodos colorimétricos, como en los no colorimétricos (Gibson *et al.* 1996).

Dependiendo también de la constitución del material a analizar, los procedimientos para determinación de almidón total mediante método enzimático pueden variar tanto en los pretratamientos, como en la gelatinización, en la dextrinización, en la hidrólisis de dextrinas a glucosa, y en la medición de glucosa. Las enzimas más utilizadas hoy en día en los métodos de determinación de almidón total son una combinación de α -amilasa termoestable (hidroliza parcialmente el almidón a maltodextrinas), y amiloglucosidasa (hidroliza las maltodextrinas a glucosa) en condiciones controladas de pH y temperatura, la primera es utilizada después o

también durante la gelatinización. La combinación de estas dos enzimas evita la formación de maltosas (azúcares más difíciles de hidrolizar) (Theander 1979; Batey 1982; Englyst y Cummings 1988; McCleary y Draga 2009).

Para almidones que pueden contener azúcares solubles o lípidos se les realiza un pretratamiento con etanol; para los que tienen dificultad para gelatinizar (altos en amilosa o almidón resistente) se utilizan pretratamientos con cierta temperatura y solventes como hidróxido de sodio, hidróxido de potasio (en frío); o dimetilsulfóxido (en caliente). Para almidones solubles y maltodextrinas la utilización de la enzima α -amilasa no es necesaria (Englyst y Cummings 1988; McCleary et al. 1994).

2.4.7.2 Almidón resistente

El almidón resistente es definido como la fracción del almidón que no puede ser desdoblada o hidrolizada por enzimas humanas en el intestino delgado. Ésta fracción del almidón ha ganado interés por conferir ciertos beneficios a la salud según algunos estudios, y se ha comprobado que en los almidones de las leguminosas existe una fracción con estas características cuya proporción es definitivamente superior a los almidones comunes. Se han realizado pruebas con almidones de chícharo logrando preparaciones altas en almidón resistente obteniendo hasta 38% de éste (Soral-Śmietana *et al.* 2001). La particularidad de este tipo de almidón es que es resistente a la digestión en el intestino delgado, y se fermenta hasta el colon lo que produce gases de ácidos grasos de cadena corta, entre los que se encuentra el butirato, principal combustible de las células del epitelio del colon o colonocitos, que juegan un papel crucial en la prevención de varias enfermedades del colon, como el cáncer. La ‘resistencia’ a la digestión de una parte del almidón de leguminosas tiene su origen en su proporción de amilosa, la cual es mayor en comparación a la mayoría de almidones como el almidón de maíz común. Los almidones que presentan una menor proporción de amilosa son fácilmente dispersados y poseen más claridad, mayor poder de hinchamiento, los geles son más deformables menos firmes, fácilmente hidrolizados y convertidos a glucosa en sangre.

Por otro lado, el contenido mayor de amilosa confiere una menor cristalinidad al almidón, se necesita una mayor temperatura de gelatinización, lo que dificulta que la totalidad del almidón sea cocinado, es por esto que una parte de éste “resiste” a la cocción y no logra digerirse en el

intestino delgado, sino que resiste su desintegración hasta el colon. Existen investigaciones que también relacionan el almidón resistente a la digestión con el tamaño y características superficiales de los gránulos, aseverando que el almidón resistente se encuentra dentro de un rango de longitud menor a 15 μm (Sajilinata *et al.* 2006), cuyas superficies lisas y carentes de poros dificultan la hidrólisis enzimática (Hoover *et al.* 2010). Además, el almidón de leguminosas adecuadamente cocinado posee una alta capacidad a ser retrógrado. El almidón retrógrado es denominado como un tipo de almidón resistente o RS3, dentro del RS1, RS2, y RS3, según la clasificación de Englyst *et al.* (1986). El RS1 se define como el almidón físicamente inaccesible por encontrarse dentro de la matriz celular, característica del almidón dentro de granos sin cocción de leguminosas (Tovar *et al.* 1992; Würsch *et al.* 1986), el RS2 se define como el almidón crudo presente en alimentos crudos como tubérculos crudos y frutos como bananas, cuyo tipo de cristalinidad lo hacen menos susceptibles a la hidrólisis en la digestión (Englyst *et al.* 1987; Faisant *et al.* 1995). El almidón retrógrado o RS3 se define como el almidón de alimentos cocinados que es mantenido a una baja temperatura, o a temperatura ambiente, lo que provoca que ocurra un reacomodamiento de las cadenas de Amilosa, resultando en una estructura semicristalina que se vuelve resistente a la digestión in vivo (Englyst and Cummings 1987; Molis *et al.* 1992). Aunque el almidón resistente de interés en leguminosas es el R1, cabe añadir que las leguminosas cocinadas también poseen almidón R2 y R3 (Noah *et al.* 1998). Conjuntamente, el almidón de leguminosas que logra ser digerido en el intestino delgado se vuelve disponible de forma lenta, especialmente en leguminosas de grano entero, lo que contribuye a lograr un índice glucémico más bajo (Lang *et al.* 1999).

2.4.7.3 Amilosa y amilopectina

Los almidones están compuestos principalmente de amilosa y amilopectina. En variedades mutantes de maíz, los gránulos de almidón pueden contener 100% de amilopectina, de las cuales se logra extraer almidón céreo apto para producir bioplásticos por medio de un proceso que permite obtener ácido poliláctico. Además de amilosa y amilopectina, los gránulos contienen también algunos componentes menores tales como proteínas, lípidos, sustancias inorgánicas, y polisacáridos no amiláceos (Liu 2005). El almidón contiene regiones cristalinas y no cristalinas en capas alternadas. La frecuencia de tales ramificaciones se regula enzimáticamente en el momento en que se lleva a cabo su síntesis a nivel celular (Keeling *et al.* 2010). Puesto que la cristalinidad es producida por el ordenamiento de las cadenas de amilopectina, los gránulos de almidón céreo

tienen un grado similar de cristalinidad que los almidones normales. La disposición radial y ordenada de las moléculas de almidón en un gránulo resulta evidente al observar la cruz de malta (cruz blanca sobre un fondo negro) en un microscopio de polarización. El centro de la cruz corresponde con el hilum, que es el centro de crecimiento del gránulo (Tester *et al.* 2004).

La amilosa es el producto de la condensación de D-glucosa por medio de enlaces glucosídicos alfa (1,4), también presenta algunos enlaces α -1,6 (Thomas y Atwell 1999), y contienen un promedio de 500 a 6000 unidades glucosídicas y pesos moleculares hasta de 1×10^6 Da (daltones), constituida por 1 a 20 cadenas lineales (MacAllister 1979). Ésta tiene la facilidad de adquirir una conformación tridimensional helicoidal y como espiral, en la que cada vuelta de hélice consta de seis moléculas de glucosa. El interior de la hélice contiene sólo átomos de hidrógeno, por lo tanto es lipofílico, mientras que los grupos hidroxilo están situados en el exterior de la hélice. En cereales y tubérculos, la mayoría de los almidones contienen alrededor de 25% de amilosa (Tester *et al.* 2004).

La amilopectina se diferencia de la amilosa en que contiene ramificaciones que le dan una forma molecular similar a la de un árbol; las ramas están unidas al tronco central por enlaces alfa D-(1,6) localizadas cada 15 a 25 unidades lineales de glucosa, presentándose éstos enlaces en un porcentaje total de 5 a 6% de los enlaces totales (Buleon *et al.* 1998). La amilopectina forma cristales polimórficos tipo A- y B- que influyen en el arreglo de sus dobles hélices (Imberty y Pérez 1998). Los cristales tipo A producen hélices relativamente compactas, con menor proporción de agua, mientras que los tipo B dan lugar a una estructura más abierta, que contiene un núcleo helicoidal hidratado. Los estudios de difracción de rayos X permiten conocer este tipo de arreglos (Tester *et al.* 2004). Su peso molecular es muy alto ya que algunas fracciones llegan a alcanzar hasta 200 millones de daltones, el peso promedio de la amilopectina va de 1×10^6 (Da) hasta 1×10^8 Da (MacAllister 1979). La amilopectina constituye alrededor de 75% de los almidones más comunes. Algunos almidones que están constituidos exclusivamente por amilopectina son conocidos como céreos. En otros almidones como el de papa, la amilopectina tiene también algunos ésteres de fosfato.

El almidón se puede identificar fácilmente gracias a que la amilosa en presencia de yodo forma un compuesto azul estable a bajas temperaturas. La amilosa y la amilopectina difieren sólo en la forma que se unen las unidades de glucosa entre sí para integrar las cadenas, pero esto es determinante para sus propiedades. Así, la amilosa es soluble en agua, es capaz de formar complejos con lípidos y alcoholes de cadena larga (Schoch 1942), y también es más fácilmente hidrolizable que la amilopectina; es decir, es más fácil romper su cadena para liberar las moléculas de glucosa (Gott *et al.* 2006). Por ejemplo, existen variedades amiláceas de maíz que contienen entre 50% y 70% de amilosa, también existen variedades de maíz céreo que no contienen amilosa (McCleary *et al.* 1994). Así, los almidones céreos producen geles cristalinos y cohesivos, la amilopectina confiere mayor viscosidad y cristalinidad. Los almidones con mayor proporción de amilosa producen geles opacos, pero con mayor espesor (McCleary *et al.* 1994). Se puede observar en el Cuadro 2.6 que los almidones provenientes de tubérculos y raíces tienden a tener un porcentaje menor de amilosa en comparación con los granos como maíz. La mayoría de almidones de leguminosas por otro lado, contienen aún más amilosa que al almidón común de maíz (entre 33 y 66%) (Montignac 2014).

Cuadro 2.6 Proporción de amilosa y amilopectina en almidones de varias especies.

	Componentes (%p.s.)		Fuente
	Amilosa	Amilopectina	
Tubérculos y raíces			
Camote, <i>Ipomoea batatas</i> (L.)	19.6	80.4	Hernández-Medina <i>et al.</i> 2008
Yuca, <i>Manihot esculenta</i> Crantz.	17	83	
Papa, <i>Solanum tuberosum</i> L.	21	79	
Cereales			
Maíz, <i>Zea Mays</i>	26.4	73.6	Lorenz y Collins 1979
Trigo, <i>Triticum aestivum</i>	24.9	75.1	
Leguminosas			
	Amilosa	Amilopectina	Fuente
Haba, <i>Vicia Faba</i> L.	31.3	68.7	Lorenz y Collins 1979
Frijol, <i>Phaseolus lunatus</i> L.	32.6	67.4	Betancur <i>et al.</i> 2003
Garbanzo, <i>Cicer arietinum</i>	48.1	51.9	Czuchajowska <i>et al.</i> 2003
Guisantes, <i>Pisum sativum</i>	52.6	47.4	

%p.s. = porcentaje de peso seco.

Las propiedades y funciones tecnológicas de los almidones dependen de su proporción o peso molecular promedio de amilasa/amilopectina así como de su organización, tanto cuando

forma parte de un material complejo (harina) como cuando se utiliza purificado, lo cual es muy frecuente. Por ejemplo: el almidón de papa (conocido genéricamente como "fécula") y el de mandioca (tapioca) se hidratan fácilmente, dando dispersiones muy viscosas; en cambio, no producen geles resistentes (Fleche 1985).

Los contenidos de amilosa en cereales generalmente son de 26 a 28%, en raíces y tubérculos son de 17 a 23%, y en variedades céreas de cualquier especie, de 0%. Los almidones ricos en amilosa mantienen su forma cuando se moldean porque son más espesos, los almidones sin amilosa gelifican pero no se espesan. Las moléculas de amilopectina no se asocian ni forman enlaces fácilmente, a diferencia de la amilosa que se asocia fácilmente con el agua o grasas (Whistler *et al.* 1984). La proporción de amilosa/amilopectina también tiene efectos nutricionales en el organismo humano, pues dependiendo de ésta se presenta un grado de digestibilidad o resistencia a ésta, ante la acción de las enzimas digestivas que transforman el almidón en una cantidad de glucosa que se absorbe en la sangre y provoca un respectivo grado de glicemia. Cuanto más se gelatiniza un almidón (por su bajo contenido de amilosa), más rápidamente lo absorben las alfa-amilasas (enzimas digestivas del almidón) lo que resulta en transformación en glucosa (hay mayor biodisponibilidad de glucosa absorbida en sangre); por lo tanto, la glicemia tiene evidentemente más tendencia a aumentar. Esto significa que cuanto menos amilosa hay en un almidón, más elevado puede ser su índice glucémico, por otro lado, si la proporción de amilosa es más elevada (como en leguminosas) su índice glucémico será inferior, ya que habrá menos gelatinización, y las enzimas digestivas amilasas tendrán mayor dificultad en actuar, entonces el almidón se transformará en glucosa a una velocidad más lenta. Esto significa una glicemia postprandial más medida, un flujo menor y con mayor duración de glucosa hacia el torrente sanguíneo. Un bajo contenido de amilosa facilita que el almidón gelatinice en el intestino delgado, que las enzimas digestivas actúen más fácilmente, y por tanto que el almidón sea más asimilable o biodisponible con mayor velocidad, con mayor conversión a glucosa en sangre (Montignac 2014). La digestibilidad de cada tipo de almidón depende también de su composición o mezcla con otros alimentos y desencadena cierto grado de biodisponibilidad como se ejemplifica en el Cuadro 2.7.

Cuadro 2.7 Digestibilidad de alimentos con distintos tipos de almidones.

	Calorías en 100 g de glúcido puro (Kcal)	Índice glicémico	Calorías disponibles en el organismo (Kcal) bajo la forma de glucosa después de la absorción
Jarabe de glucosa	400	100	400
Papas/patatas fritas	400	95	380
Pan blanco	400	70	280
Lentejas	400	30	120

Fuente: Montignac (2014).

Respecto a la digestibilidad, cabe agregar que la de los almidones provenientes de cereales y granos es más compleja en comparación con los almidones y carbohidratos provenientes de frutas y vegetales frescos, los cuales se convierten más fácilmente en glucosa y energía disponible para el organismo. Además del contenido de amilosa-amilopectina y el índice glucémico, existen otros factores de importancia que tienen mucho peso en la digestión de cada tipo de almidón, sobre todo en el caso de almidones ya extraídos (que ya no cuentan con las fracciones de sus granos enteros). Algunos de los factores son: salud de la flora intestinal, acción de enzimas (endógenas y/o exógenas), acción de coenzimas (presentes en las vitaminas), ausencia o presencia de las fracciones del grano entero, y algo muy importante, tratamientos, procesos de extracción, y cocción del almidón (Guyton y Hall 2006).

2.4.8 Análisis proximales

Los análisis proximales se aplican a materiales que son utilizados para elaborar algún tipo de alimento como fuente de proteína o energía, esto como un control para verificar que cumplan con requerimientos en su formulación. Éstos indican el contenido de humedad, proteína cruda (Nitrógeno total), fibra cruda, lípidos crudos, ceniza, azúcares solubles, y extracto libre de nitrógeno en la muestra. En los almidones aislados pueden encontrarse varios de éstos componentes en muy pequeñas cantidades. En el Cuadro 2.8 se observan los contenidos de componentes proximales para algunos almidones.

Cuadro 2.8 Composición proximal en almidones de distintas especies.

Especie	Componentes (%p.s.)					Fuente
	Hum	Proteína cruda	Grasa cruda	Fibra cruda	Cenizas	
Camote	9.83	0.22	0.31	0.28	0.26	Hernández-Medina <i>et al.</i> 2008
Yuca	9.48	0.06	0.2	1.01	0.29	Hernández-Medina <i>et al.</i> 2008
Papa	8.50	0.06	0.05	0.05	0.4	Alvis <i>et al.</i> 2008
Maíz	9.9	0.079	0.06	0.62	0.06	Lorenz y Collins 1979
Trigo	NR	0.058	0.07	NR	NR	Lorenz y Collins 1979
Haba	NR	0.083	0.080	0.067	NR	Haase 1991

NR = No reportado. %p.s.= porcentaje de peso seco.

En los almidones comerciales, sobre todo para la industria alimenticia, se tiene una mayor exigencia de pureza, por lo que las cantidades presentes no deben sobrepasar las permitidas por las normas de calidad. Los contenidos bajos de proteína cruda son necesarios en el caso de ser destinados para la producción de jarabes con alto contenido de glucosa. El nivel permitido por la FDA en almidones de maíz es de 0.35%, el cual hace factible la producción de jarabes, evitándose las reacciones de Maillard (Zajac 1989).

2.4.9 pH del almidón

El valor del pH (y la acidez titulable) en los almidones es una medida para determinar el grado de fermentación del almidón. El pH disminuye a 4.0 cuando ocurre la fermentación ácida. El crecimiento de hongos libera amoníaco y se incrementa el pH. El valor del pH de un almidón nativo debe estar entre 6.0 y 6.5 (Nakamura 1975; Cereda y Lima 1981).

2.4.10 Propiedades funcionales

El almidón puede tener numerosas propiedades funcionales, tanto alimenticias como no alimenticias, que dependen en gran medida de la organización de su estructura de amilosa/amilopectina. Las propiedades funcionales son: Gelatinización, viscosidad y retrogradación consideradas como las más importantes; otras propiedades muy relacionadas con las anteriores son la claridad de pasta, poder de hinchamiento, índice de solubilidad en agua e índice de absorción de agua.

La viscosidad es una medida de la facilidad con que un líquido fluirá. Los líquidos claros tienen baja viscosidad, los líquidos espesos tienen elevada viscosidad, se presenta cuando las moléculas de amilosa se liberan y absorben agua (Luallen 1985).

Los gránulos de almidón son insolubles en agua fría y en la mayoría de solventes orgánicos, pueden absorber agua de manera reversible (sin que se colapsen los gránulos) hasta cierta temperatura. Al aumentar el calor (a partir de 55 – 70 °C) se inicia la gelatinización, proceso en el que se logra el hinchamiento de todos los gránulos, la temperatura en la que esto se logra depende de la variedad del almidón utilizado. Además se produce la lixiviación de la amilosa, la gelatinización total se produce normalmente dentro de un intervalo más o menos amplio de temperatura, siendo los gránulos más grandes los que primero gelatinizan (Gott *et al.* 2006). El punto de gelatinización inicial y el intervalo de temperatura sobre el que se produce, se rige por la concentración del almidón, el método de observación, el tipo de gránulos (proporción y arquitectura de amilosa – amilopectina de la especie) y la heterogeneidad dentro de la población de gránulos bajo observación (Atwell *et al.* 1988). Dependiendo del tipo de almidón puede variar la temperatura de gelatinización. Por ejemplo: en almidón de maíz la gelatinización ocurre a 88 – 90 °C (Gott *et al.* 2006).

Los diversos estados de gelatinización son: 1. T_i : la temperatura de iniciación (primera observación de la pérdida de birrefringencia), 2. T_p : la temperatura pico, 3. T_f : la temperatura final de la pérdida de birrefringencia (T_f , es la temperatura a la cual el último gránulo en el campo de observación pierde su birrefringencia), y 4. ΔT el intervalo de temperatura de gelatinización o entalpía de gelatinización (Hernández-Medina 2008). Al final de este fenómeno se genera una pasta en la que existen cadenas de amilosa de bajo peso molecular altamente hidratadas que rodean a los agregados, también hidratados, de los restos de los gránulos. Durante la gelatinización del almidón con agua caliente los gránulos de almidón se hinchan y colapsan al pasar por una transición a un cambio irreversible en sus propiedades, experimentando hinchamiento en sus moléculas, disolución cristalina, pérdida de birrefringencia, desarrollo de viscosidad y solubilidad.

La retrogradación del almidón se ha utilizado para describir los cambios en el comportamiento físico después de la gelatinización. Se define como la insolubilización y la precipitación espontánea, principalmente de las moléculas de amilosa, debido a que sus cadenas lineales se orientan paralelamente y accionan entre sí por puentes de hidrógeno a través de sus

múltiples hidroxilos; la retrogradación es el proceso que se produce cuando las moléculas de almidón se re-asocian y forman una estructura ordenada como dobles hélices durante el almacenamiento. En una etapa inicial, dos cadenas pueden asociarse. En la última etapa, en condiciones favorables, un orden cristalino aparece y se produce una separación física de las fases (Atwell *et al.* 1988). La retrogradación se puede efectuar por diversas rutas que dependen de la concentración y de la temperatura del sistema. Las dos rutas de retrogradación son: 1) Si se calienta una solución concentrada de almidón y se enfría rápidamente hasta alcanzar la temperatura ambiente se forma un gel rígido y reversible; 2) Si las soluciones son diluidas, se vuelven opacas y precipitan cuando se dejan reposar y enfriar lentamente.

La retrogradación es una propiedad importante en el uso industrial de almidón, ya que puede ser un punto final deseado en ciertas aplicaciones, pero también puede llegar a producir inestabilidad en las pastas elaboradas de almidón. Por lo que se ha llegado a emplear la modificación estructural, ya sea por medios genéticos para cambiar la vía de biosíntesis de almidón o por modificación química o física de almidón, para alterar el proceso de retrogradación (Liu 2003). La retrogradación está directamente relacionada con el envejecimiento del pan, las fracciones de almidón o las secciones lineales de amilopectina que se retrogradan forman zonas con una organización cristalina muy rígida, que requiere de una alta energía para que se rompan y el almidón gelatinice (Luallen 1985).

2.4.10.1 Claridad de pasta

La claridad indica el grado de transparencia de una pasta, está directamente relacionado con el estado de dispersión de los solutos y con la tendencia a la retrogradación de los almidones. Se mide por la capacidad de éstas para transmitir la luz cuando son sometidas al paso de un haz radiante, generalmente en los almidones varía entre 12.5 y 95%. Las pastas que presentan valores inferiores a 40% se consideran turbias, las que presentan valores superiores se consideran claras o transparentes (Craig *et al.* 1989).

2.4.10.2 Índices de solubilidad, absorción de agua, y poder de hinchamiento

El índice de absorción de agua y el poder de hinchamiento son utilizados como indicadores de la retención del agua. El índice de absorción de agua es una medida indirecta del grado de

almidón gelatinizado por la cocción (Bressani y Estrada 1994). Al separarse fragmentos de la cadena de almidón se facilita la formación de uniones puente hidrógeno con el agua y la amilosa, lo que beneficia la absorción de agua y la gelatinización (Fennema 1980). La importancia de este índice radica en la incidencia que tiene en la palatabilidad de los alimentos (Ruales *et al.* 1993).

El índice de solubilidad indica el nivel de degradación de los polímeros contenidos en el almidón, ya que al sufrir alguna modificación, sufre daño produciéndose una degradación de los polímeros generalmente solubles en agua (Stone *et al.* 1984; Ruales *et al.* 1993).

Almidones de buena calidad con alto contenido de almidón y alta viscosidad de la pasta, tendrán una baja solubilidad, alta absorción de agua y un alto poder de hinchamiento. Alta solubilidad, baja absorción de agua y bajo poder de hinchamiento indican un almidón de baja calidad, el cual al enfriarse produce pastas delgadas y de poca estabilidad.

En un almidón nativo, la amilosa inhibe la capacidad del gránulo de hincharse y absorber agua, por otro lado la amilopectina favorece éstos procesos, ya que se piensa que sus ramificaciones laterales facilitan la entrada del agua a los espacios intermoleculares, aumentando la solubilidad de los polímeros, siendo la amilopectina la de mayor proporción de disolución (Salinas-Moreno *et al.* 2003). El poder de hinchamiento de los almidones es una propiedad de la amilopectina, por otro lado la amilosa actúa como diluyente e inhibidor del hinchamiento. El contenido de amilopectina es determinante en el poder de hinchamiento de los gránulos, a mayor contenido de amilopectina, mayor es el poder de hinchamiento, la amilosa por otro lado limita el hinchamiento actuando más bien como diluyente (Cheng *et al.* 1996).

Como referencia, el índice de absorción de agua en el almidón de yuca varía entre 0,82 y 15,52 g gel/g muestra; el índice de solubilidad en agua entre 0.27-12.32% y el poder de hinchamiento entre 0.79 y 15.45 g de agua/ g de almidón (Aristizábal 2007).

2.4.11 Propiedades físicas

2.4.11.1 Color

La falta de blancura en los almidones (inferior a 95%) indica que no pueden ser utilizados en productos de coloración clara o blanquecina por lo que su calidad no se considera óptima. El

análisis del color se lleva a cabo con un colorímetro de reflectancia, previamente calibrado contra un platillo blanco que representa el estándar. A partir de los valores obtenidos de la escala CIEL $L^*a^*b^*$ se calcula la variación total entre muestras (ΔE), definido por la siguiente ecuación:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$$

Donde:

ΔE : Indica el cambio total del color, es decir, la variación total del color entre las muestras
 L^* : Representa el índice de luminosidad (100 = blanco y 0 = negro) a^* : Índice de longitud de onda predominante, mide los colores de rojo (+) a verde (-), y el 0 es neutro b^* : Índice de longitud de onda predominante, mide los colores de amarillo (+) a azul (-) y 0 es neutro L^*/b^* : Indica el matiz de la harina cruda, intensidad del color amarillo. Para obtener los valores de ΔE , se utiliza como índice de comparación o Standard la placa blanca de porcelana del instrumento. Además, se calcula el índice de blancura (IB), que representa la blancura total de la muestra, de acuerdo a ecuación descrita por Chin-Lin et al. (2003):

$$IB = 100 - (100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}$$

2.4.11.2 Morfología de gránulos

Las propiedades morfológicas de los gránulos de almidón varían con el cultivares y las prácticas de cultivo (Medina *et al.* 2007). Como ya se mencionó, molecularmente los gránulos de almidón están constituidos de amilosa (cadenas glucosídicas de naturaleza linear) y amilopectina (cadenas ramificadas de glucosa). Ambas cadenas presentan cierta proporción dentro del gránulo y se distribuyen de forma radial alrededor de un núcleo llamado hilum, que microscópicamente se aprecia como una cruz de malta en cada gránulo de almidón nativo y crudo, debido a que la birrefringencia está presente. Es a través del hilum que ingresa el flujo del solvente cuando el almidón es sometido a una solución para extenderse después hacia la periferia. De esta manera, la velocidad a la cual ocurre el hinchamiento también está relacionada con la forma y tamaño de los gránulos, lo que a su vez puede repercutir en su procesamiento.

Así, la distribución de los tamaños granulares pueden ser determinantes en su funcionalidad, estadísticamente los tamaños tienen la probabilidad de ajustarse a un tipo de distribución.

El grado de heterogeneidad u homogeneidad en los tamaños de los gránulos también puede ser un factor influyente en el punto y nivel de la gelatinización (Gott *et al.* 2006).

En estudios de gelatinización y entalpía realizados en gránulos de almidón de maíz por calorimetría de barrido diferencial se ha corroborado que los gránulos de almidón pequeños gelatinizan más lentamente y a más altas temperaturas (Narváez-González *et al.* 2007). Los gránulos grandes gelatinizan a temperaturas más bajas pero con entalpías más altas (absorben mayor cantidad de calor). Esto se puede deber a que las cadenas de polisacáridos son más ordenadas y estables en gránulos grandes que en gránulos pequeños, cuyos polisacáridos tienden a ser más desordenados y sus cristales son más inestables (Narváez-González *et al.* 2007).

En el caso de los gránulos de haba no hay documentación acerca de la relación entre la velocidad o nivel de gelatinización con el tamaño y constitución de sus gránulos, con lo cual se podría tener una mayor certeza de los requerimientos energéticos en sus procesos.

La Figura 2.30 ilustra la morfología de los gránulos de almidón de dos especies distintas y se puede decir que opuestas en su constitución de amilosa, el de haba (Figura 2.30A), y maíz céreo (Figura 2.30B).

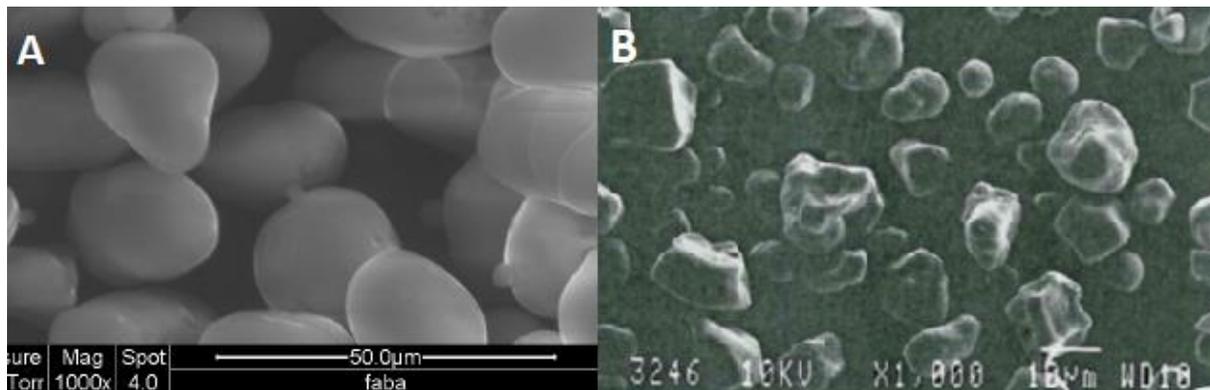


Figura 2.15 Imágenes de microscopía electrónica de gránulos de almidón. A. Haba, 1000 aumentos (Lee *et al.* 2007); B. Maíz céreo 1000 aumentos (Purdue University-Whistler Center for Carbohydrate Research, Vickie *et al.* 2002).

En el Cuadro 2.9 se concentran datos de la morfología de gránulos para algunos almidones comunes, en donde se describen las formas desde esféricas, como en macal y camote, hasta poligonales como en sagú y maíz.

Cuadro 2.9 Tamaño y forma de los gránulos de almidón de varias especies.

Almidón	Promedio (μm)	Intervalo (μm)	Forma
Makal	12.40	8-20	Esférica
Camote	12.41	8-28	Esférica
Yuca	16.50	8-22	Esférica, truncada
Sagú	10.64	4-20	Poligonal
Maíz	15	3-26	Poligonal
Papa	33	5-100	Oval, esférica

Fuente: Hernández-Medina *et al.* (2008).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Material vegetal

El material vegetal que se utilizó procedió de un total de 19 categorías de colectas pertenecientes a cinco cultivares de haba en grano previamente cosechadas (Cuadro 3.1). Entre los criterios de selección de ésta zona productora se pueden encontrar la precocidad, tamaño de grano, intensidad del color amarillento del endocarpio, resistencia a las heladas, entre otras (Díaz-Bautista *et al.* 2008). Tales cultivares se establecieron y cosecharon durante 2006, 2007, 2011, 2012 (Zoapan, Tlachichuca, Puebla; San Cayetano, Chalchicomula de Sesma, Cd. Serdán, Puebla).

En cada año de estudio, la siembra se llevó a cabo entre la primera y segunda semana del mes de marzo y la cosecha en la última semana de noviembre. Como se observa en el cuadro 3.1, se analizaron tres factores, ambiente, año de cosecha, y la colecta-cultivar.

Cuadro 3.1 Lista de colectas, cultivares, y diseño del experimento completamente al azar, para los análisis estadísticos en función de tres factores, ambiente, año de cosecha, y cultivar.

Efecto	Colecta_Cultivar		
Ambiente	1. Zoapan 2007	89_Ta	181_Tp
	2. Tlachichuca 2007	89_Ta	181_Tp
Año de cosecha	1. 2006		
	2. 2011		181_Tp
	3. 2012		
Colecta_Cultivar*	Tlachichuca 2007	San Cayetano 2011	
	22ZAC_Cb	22ZAC_Cb	
	93_Ca	93_11	
	146_Cm	146_11	
	160_Cb	160_11	
	181_Tp	181_11	
	281_Ta	281_11	
	C288TL07 Ta	C288_11	

*Cultivar Ca= ‘Cochinera amarilla’, Cb = ‘Cochinera blanca, Cm = ‘Cochinera morada’, Ta = ‘Tarragona amarilla, Tp = ‘Tarratona parraleña’.

Para el factor ambiente en el diseño experimental se evaluaron dos ambientes, Zoapan y Tlachichuca 2007, y dos cultivares, Tarragona amarilla (Ta), colecta 89, y Tarragona parraleña, colecta 181, sumando 4 categorías (89Ta-Zoapan, 89Ta-Tlachichuca, 181Tp-Zoapan, 181Tp-Tlachichuca); para el factor año de cosecha se evaluó un solo cultivar, Ta, colecta 181, en tres años distintos de cosecha, 2006, 2011 y 2012, siendo tres categorías, en una misma localidad; finalmente para el factor colecta-cultivar se evaluaron siete colectas de cinco cultivares distintos (22-Cochinera blanca, 93-Cochinera amarilla, 146-Cochinera morada, 160-Cochinera blanca, 181-Tarragona paraleña, 281-Tarragona amarilla, y 288-Tarragona amarilla) en dos localidades con años distintos de cosecha, en Tlachichuca 2007, y en San Cayetano 2011, sumando 14 categorías de colectas-cultivares.

Los granos utilizados en el experimento estuvieron almacenados en una bodega especial del Colegio de Postgraduados Campus Puebla, con las condiciones necesarias para su adecuada conservación a una temperatura entre 20 y 22 grados centígrados.

3.2 Caracterización de ambientes

Para corroborar que las dos localidades del efecto ambiente (ver Cuadro 3.1, efecto ambiente) en los que se realizaron las siembras del material vegetal, poseen diferencias significativas suficientes como para afirmar que son ambientes distintos, se realizó un análisis de ambientes con el software JMP (Versión 10.0 2012 SAS Institute Inc.) Se utilizaron las variables: sitio, clasificación climática, temperatura media anual, precipitación media anual, régimen de humedad del suelo, zona ecológica, altitud, precipitación del mes más seco, porcentaje de precipitación de lluvias en invierno, temperatura del mes más frío, tipo de suelo, radiación solar media, y vegetación, se realizó un análisis por conglomerado y se obtuvo el dendograma (Ver Figura 4.1).

3.3 Determinación de condiciones climáticas en tiempo real de los sitios de cultivo

Para determinar parte del marco geográfico en el que se cultivaron las habas con las que se trabajó en el laboratorio se consideró significativo tener la referencia de las condiciones climáticas que se presentaron en tiempo real durante el cultivo de dicho material vegetal. Debido a que no se contó con estaciones meteorológicas en las ubicaciones exactas de los experimentos, se realizaron interpolaciones para hacer aproximaciones de las variables climáticas utilizando datos de las estaciones más cercanas. Las variables calculadas fueron: precipitación acumulada mensual, temperaturas promedio máximas, mínimas y medias mensuales. Tales resultados se observan de forma gráfica en las Figuras 2.13, 2.14, y 2.15; y en los cuadros anexos 2.10A, 2.11A, Y 2.12A. Primero se buscaron los datos mensuales en los registros de las estaciones cercanas, las estaciones utilizadas y sus coordenadas geográficas se ven en el Cuadro 3.2.

Cuadro 3.2 Estaciones meteorológicas utilizadas para calcular las variables climáticas del sitio de cultivo.

Estación	Coordenadas	
	Y	X
Real Del Valle	19.1323	-97.4498
San Antonio	19.0534	-97.4893
San Nicolás	19.1754	-97.5386
El Seco, Pue.	19.1417	-97.6691
San Sebastián	19.0620	-97.7240
El Sahuaro	18.8572	-97.7221
Tepeaca	18.9894	-97.9006
Sn José O.	19.1810	-97.7835
El Carmen	19.3185	-97.6439
La Noria, Pue.	19.4255	-97.6288
Rancho Alfonso	19.3079	-97.4026
Cd. Serdán	18.9839	-97.4417
Guadalupe Victoria	19.2914	-97.3419
San Isidro Canoas	18.9828	-97.3522

Fuente: INIFAP (2013) Y SMN (2013).

Para calcular los datos faltantes se ocupó el software SPSS versión 20, en donde se buscó la ecuación con regresión más cercana, y se sustituyeron los valores para calcular los datos faltantes. Cuando se completaron los datos se realizaron bases de datos de las estaciones utilizadas, sus coordenadas, y las variables climáticas (precipitación y temperaturas) en los meses requeridos, se georreferenciaron las coordenadas, y se corrieron en el software Arc Map 10.0 utilizando la herramienta <<Krigging>> que proyectó los resultados de las isoyetas e isotermas con las que se realizaron las tablas y gráficas del apartado 2.2.1.

3.4 Caracterización morfológica de granos

Para el peso de 100 granos, por cada colecta de haba se muestrearon granos al azar y se determinó por cuadruplicado en una balanza digital (marca AND, modelo HF 3000G) el peso de 100 semillas (g) tomadas del lote al azar.

Para el volumen de 100 granos, por cada colecta de haba se determinó por cuadruplicado, y por desplazamiento en una probeta de vidrio, el volumen (mL) de 100 granos tomados del lote al azar.

Para el tamaño de los granos, en cada colecta de haba se tomaron muestras al azar de 40 granos. Las mediciones se hicieron por cuadruplicado en mm, con un vernier digital (marca Mitutoyo, modelo CD-06). Las variables que se registraron fueron largo, ancho y grosor. Se recaudó la base de datos para analizar.

Se construyó la base de datos en base al Cuadro 3.1 con cuatro repeticiones por colecta, para su posterior análisis en función del cultivar, ambiente, y año de cosecha.

3.5 Extracción de almidón y rendimiento

Previamente fueron los granos de cada colecta desprovistos de la testa, pasados por el molino y tamizados en malla de 0.8 mm de tamaño de partícula para obtener la harina. Se clasificaron las harinas por cultivar para proceder a la extracción del almidón.

Posteriormente se probaron métodos para la extracción del almidón, primeramente se intentó el método establecido en un tipo de frijol por Chavan *et al.* (2010), pero no se obtuvo éxito para aislar el almidón. Finalmente se eligió el protocolo de Lee *et al.* (2007), quienes establecieron el procedimiento para extraer almidón en diferentes semillas de leguminosas, como lenteja (*Lens culinaris*), garbanzo (*Cicer arietinum*), frijol mungo (Mung bean) y haba (*Vicia faba*).

Con el método elegido se logró un rendimiento de almidón de 34.8% (b.h.), a partir de harina sin desengrasar de granos sin testa. Tal resultado es acorde con publicaciones consultadas en *Vicia faba* L. (Silva *et al.* 2007).

Para cada extracción en todas las colectas, el tamaño de la muestra de harina, se estandarizó en 25 g. Se realizaron tres repeticiones por colecta. Se pesaron los rendimientos en húmedo para cada extracción. También se tomaron las humedades de las harinas y almidón extraído para calcular los resultados en materia seca.

El proceso consistió en: a) A cada muestra de harina se le realizó un primer lavado en una disolución de 1:3, con una solución alcalinizada con NaOH 0.1 M a pH 9.5. b) Se adicionó metabisulfito de sodio (0.01 p/v) durante el primer lavado, para evitar desarrollo bacteriológico (Lee *et al.* 2007). c) Se centrifugó a 3000 rpm por 30 min. d) Se realizó un cuidadoso raspado con espátula para remover y desechar la capa superficial lipídica. e) Nuevamente se adicionó agua a pH 9.5, en una proporción 1:3. Se repitieron los pasos c y d. A continuación se comienza

propriadamente con la extracción. f) El sedimento es mezclado en un vaso de precipitado con agua a pH 9.5 en disolución 1:10 (p/v) a una temperatura constante de 38 °C (esto se hizo con ayuda de una parrilla, con agitación magnética constante y un termómetro) por 2h. g) Se verificó el pH y la temperatura a intervalos de 20 min, y se corrigió el pH con solución de NaOH 0.1 M a pH 9.5. h) Al terminar con la extracción se vació el contenido del vaso pasando la totalidad de la solución por una malla de 44 µm, de la cual solo pasaron partículas de almidón junto con el extracto proteico. i) Se dejó en reposo mientras se realizó la segunda extracción. j) A la masa retenida en la malla se le aplicó una extracción más, como en los pasos f a i. k) Se juntaron ambas extracciones en el mismo recipiente y se dejó reposar por aproximadamente 90 min. l) El sobrenadante se decantó (este extracto proteico podría ser un subproducto aprovechable). m) Se realizaron dos lavados más al almidón con agua destilada (relación de volumen aproximada almidón:agua 1:3), se reposó por 90 min entre cada lavado y se decantó. n) El almidón se lavó por tercera vez con agua destilada (1:3) y se filtró con papel filtro Whatman 1 en un embudo büchner, con bomba de vacío. o) Posteriormente, el papel filtro con el almidón se puso a secar a temperatura ambiente por 24 h, hasta que el papel se sentía totalmente seco. p) La costra seca de almidón se pasó a un mortero y se pulverizó muy cuidadosamente, se almacenó a 4 °C en frasco de vidrio ámbar bien cerrado, para posteriores análisis. q) Para cada muestra finalmente se calculó el rendimiento de almidón obtenido en peso seco y peso húmedo, considerando tanto la humedad de la harina como la del almidón, las cuales fueron determinadas previamente en una termobalanza (Marca, Ohaus, Modelo Md 45) con calentamiento a 90 °C. Los cálculos se realizaron de acuerdo a las siguientes fórmulas:

$$\% \text{Rendimiento húmedo} = \frac{\text{peso tal cual de almidón extraído en g}}{25 \text{ g}} \cdot 100$$

$$\% \text{Rendimiento en peso seco} = \% \text{Rendimiento humedo} \cdot \frac{100}{(100 - \% \text{humedad almidón})}$$

Los resultados se muestran en el apartado 4.3.

3.6 Propiedades químicas del almidón

3.6.1 Almidón total

En todas las muestras de haba se determinó el almidón total a partir del almidón puro, con el seguimiento del método de la AOAC 996.11 y AACC 76.13 (AACC 1995), utilizando un kit (Megazyme International Ireland, Kit Total Starch 07/11). Se realizaron tres repeticiones por colecta, a partir de muestras de almidón puro extraído en el laboratorio, se realizaron las bases de datos con los resultados en base al diseño experimental en función del cultivar, ambiente, y año de cosecha (como se ve en Cuadro 3.1)

El procedimiento estándar de Megazyme se utilizó sin modificaciones. La muestra de almidón (100 mg) se trató con α -amilasa termoestable en un baño en ebullición durante 6 min. Después de la adición de amortiguador de acetato, se añadió amiloglucosidasa y se incubaron durante 30 minutos a 50 ° C. Las soluciones se diluyeron a 100 mL, se centrifugaron alícuotas de 10 mL, y se analizaron las muestras. Para cada tubo a analizar en el espectrofotómetro se usó un volumen de 100 μ L de la última solución centrifugada para cada muestra (extraídas cuidadosamente del fondo con la micropipeta), y además 3 mL del reactivo GOPOD suministrado por Megazyme. Para la cuantificación, por cada corrida de muestras se midió además la absorbancia espectrofotométrica para 100 μ L de glucosa como referencia, con 2 repeticiones y se sacó el promedio para tomar la absorbancia promedio en la fórmula del cálculo matemático señalado en la figura 3.7; como blancos se utilizaron 100 μ L de agua. Adicionalmente, para comprobar la eficacia del procedimiento, en cada corrida de muestras se tomó como testigo una muestra de almidón de maíz proporcionada por el kit. Las repeticiones fueron comparadas con un control de almidón puro de maíz de Megazyme, con una composición de almidón total conocida del que se obtuvieron promedios cercanos a 96% tal como lo marcaba la etiqueta. El contenido total de almidón se calculó de acuerdo con las siguientes fórmulas:

$$\text{Almidón total} = \Delta A \cdot \frac{F}{P} \cdot VF \cdot 90$$

Dónde:

ΔA = Absorbancia obtenida de la muestra.

$F = 100 (\mu\text{g de D-Glucosa})/\text{Absorbancia para } 100 \mu\text{g de D-Glucosa (conversión de absorbancia a miligramos)}$.

$P = 100 \text{ mg (peso inicial de muestra de almidón en húmedo)}$

VF = Volumen final utilizado, 100 mL ya que según el protocolo éste era requerido si la muestra tenía un porcentaje de almidón total mayor a 10%, y como la muestras son de almidón puro, por ende contienen un almidón total mayor a 10%.

3.6.2 Almidón resistente

Para realizar las determinaciones de almidón resistente se utilizó el método AOAC 2002.02, AACC 32 – 40.01, utilizando un Kit (Megazyme International Ireland, Kit Resistant Starch 08/11). Se realizaron tres repeticiones por colecta, y además por duplicado, re promediando a solo tres para constituir la base de datos conforme al Cuadro 3.1, en función del cultivar-colecta, ambiente, y año de cosecha. Las muestras consistieron en 100 mg de almidón puro cada una.

En éste método se puso atención en el efecto de la concentración de la enzima α -amilasa pancreática, el pH de incubación, la importancia de la inhibición de las maltosas sobre la α -amilasa, para lo cual también se incluyó la enzima amiloglucosidasa. Se tuvo precaución en la importancia del efecto de la agitación continua de las muestras, tanto externa, como con agitadores magnéticos dentro de cada tubo, para una mejor determinación final de los valores, y para evitar problemas en la recuperación y análisis del pellet que contenía el almidón resistente.

Las muestras fueron encubadas en un baño con agitación simultáneamente con las enzimas α -amilasa pancreática, y amiloglucosidasa (AMG) por 16 horas a 37°C, tiempo durante el cual ocurrió la disolución del almidón no resistente mismo que se hidrolizo a D-glucosa por la combinación de estas dos enzimas. Tal reacción fue terminada con la adición de etanol desnaturalizado, el almidón resistente se recuperó en el pellet por centrifugación. Posteriormente se realizaron lavados con una solución de etanol al 50%, seguido con centrifugación. El líquido sobrenadante fue removido por decantación. Los pellets fueron disueltos con una solución de KOH 2M agitando vigorosamente en un baño con hielo y agitación, y además con agitación magnética dentro de cada muestra. Después esta solución fue neutralizada con el buffer de acetato de sodio 1.2 M (pH3.8) y el almidón fue cuantitativamente hidrolizado a glucosa con amiloglucosidasa. La D-glucosa fue medida con GOPOD (reactivo de glucosa oxidasa/peroxidasa) para determinar la

cantidad de almidón resistente contenida en la muestra. Se midió la absorbancia a 510 nm contra los blancos, y los estándar (los blancos se prepararon con 0.1 mL del buffer de acetato de sodio 100mM (pH 4.5), y 3 mL del reactivo GOPOD; los estándar se prepararon con 0.1 mL de D-glucosa y 3 mL de GOPOD).

Los cálculos se determinaron bajo la siguiente fórmula

$$\text{Almidón Resistente} = \Delta E \times F/W \times 9.27$$

$$\text{Almidón no resistente o solubilizado} = \Delta E \times F/W \times 90$$

$$\text{Almidón total} = \text{Almidón Resistente} + \text{Almidón solubilizado}$$

Dónde:

ΔE = absorbancia leída contra el blanco.

F = conversión de la absorbancia a microgramos, lo que equivale a la absorbancia obtenida para 100 μg de D-Glucosa por la acción de GOPOD (Glucosa oxidasa más peroxidasa y 4-aminoantipyrine) que es = 100/absorbancia.

W = peso seco de la muestra analizada que es = 100 – contenido de humedad.

3.6.3 Amilosa y amilopectina

Este procedimiento se realizó por medio un kit para la medición de amilosa/amilopectina en almidón puro (Megazyme International Ireland, Kit amylose/amylopectin 07/11). Respecto a los métodos tradicionales de cuantificación de Amilosa, se ha descubierto que el método del iodo no es exacto y lleva muchas veces a una sobrestimación del contenido de amilosa por lo que se requieren correcciones. Por otro lado, la formación de complejos de amilopectina con lectina concanavalina A (Con A) ofrece una alternativa en la medición de la amilasa en el almidón, lo que elimina los errores. Bajo condiciones específicas de pH, temperatura y fuerza iónica, los complejos de Con A funcionan de manera más efectiva.

El procedimiento de este tipo de método fue desarrollado por Yun y Matheson (1990) en el cual se usa etanol pre-tratado para remover lípidos antes del análisis, y es el resultado de una modificación al método de Morrison y Laignet (1983).

El procedimiento para la determinación de amilosa y amilopectina fue el siguiente: Posterior a la preparación de buffers, solventes y reactivos, según el manual del kit, se utilizaron muestras de almidón extraído en el laboratorio de 20 mg, realizando 3 repeticiones por cultivar, y por duplicado, re promediando para obtener tres datos finales por cultivar, y construyendo la base de datos con resultados en base al diseño experimental del Cuadro 3.1.

El proceso de las muestras consistió en tres partes:

1) Pre-tratamiento del almidón: se colocaron las muestras (registrando pesos con exactitud de 0.1mg) en tubos con tapa, se agregaron 2 mL de DMSO (dimetil-sulfóxido) con agitación continua en vortex a baja velocidad, se colocaron los tubos en baño en ebullición por 1 minuto evitando formación de grumos; se agitó en vortex a alta velocidad, y se mantuvieron los tubos en baño en ebullición por 15 minutos más agitando intermitentemente para evitar formación de grumos; se reposaron los tubos por 5 minutos, se agregaron 4 mL de etanol al 95% agitando en vortex, se agregaron 8 mL más de etanol al 95% invirtiendo el tubo para mezclar, los tubos se reposaron por 15 minutos; se centrifugó a 4000 g por 5 minutos descartando el sobrenadante dejando los tubos invertidos sobre papel absorbente por 10 minutos; Se adicionaron 2 mL de DMSO mezclando en vortex, y se colocó en baño en ebullición por 15 minutos agitando intermitentemente; Se retiraron del baño e inmediatamente se adicionaron 4 mL de solvente Con A (buffer 3 del manual), se mezcló y transfirió a matraces de 25 mL lavado con el mismo solvente, se aforaron los matraces con solvente Con A (a esto se le identificó como solución A.

2) Precipitación de amilopectina con concavalina A para la determinación de amilosa: se transfirió 1 mL de la solución A a tubos eppendorf de 2 mL, se adicionaron 0.5 mL de la solución Con A(bote 1 del kit) se taparon los tubos e invirtieron cuidadosamente para mezclar sin hacer espuma; se reposaron los eppendorf por 1 hora a temperatura ambiente y se centrifugaron a 14 000 g por 10 minutos (micro centrifugadora modelo 200r, marca Hettich) a temperatura ambiente, se transfirió 1 mL del sobrenadante de cada tubo a un tubo de centrífuga de 15 mL, se adicionaron 3 mL de buffer de acetato de sodio 100 mM pH 4.5, se tapó con una canica cada tubo y se colocaron en baño a ebullición por 5 minutos; se colocaron tubos en otro baño a 40°C para equilibrarlos por 5 minutos, se adicionaron 0.1 mL de la mezcla enzimática de amiloglucosidasa/ α -amilasa, se encubaron a 40°C por 30 minutos, se centrifugaron a 4000 g por 5 minutos; se extrajeron alícuotas de 1 mL del sobrenadante en tubos de vidrio, se adicionaron 4 mL del reactivo GOPOD, se

incubaron a 40°C por 20 minutos incluyendo blancos (duplicado con 1 mL de buffer de acetato de sodio) y controles de glucosa (duplicado con 0.1 mL de glucosa 0.9 de buffer de acetato de sodio y 4mL de GOPOD); se leyó la absorbancia a 510 nm.

3) Determinación de almidón total: Se mezcló en un tubo 0.5 mL de la solución A con 4 mL de buffer de acetato de sodio 100mM pH4.5; se adicionaron 0.1 mL de la mezcla de enzimas amiloglicosidasa/ α -amilasa, mezclar y encubar a 40°C por 10 minutos; se transfirieron alícuotas de 1.0 mL por duplicado a tubos de vidrio, se adicionaron 4mL de GOPOD, y se encubó a 40°C por 20 minutos. Se leyó la absorbancia paralelamente con los tubos de la sección 2.

Finalmente se calculó el contenido en porcentaje de amilosa y amilopectina mediante la siguiente fórmula en base al manual:

$$\%Amilosa = \frac{(\text{absorbancia del sobrenadante Con A})}{(\text{absorbancia de la alícuota de Almidón Total})} \times 66.8$$

El porcentaje de amilopectina se calculó restando 100% - %Amilosa. Se realizaron tres repeticiones por colecta.

3.7 Análisis proximales

3.7.1 Determinación de humedad

Se pesaron muestras de 0.5 g de almidón puro y se colocaron en una charola de aluminio formando una capa lo más homogénea posible en una termobalanza (Marca, Ohaus, Modelo Md 45) con calentamiento a 90 °C y se esperó a que diera lectura, se tomó una muestra por frasco de almidón puro. Se registró el porcentaje de humedad cuando ya no hubo variación en la lectura. Se realizaron tres repeticiones por colecta, construyendo bases de datos en base al diseño experimental del Cuadro 3.1.

3.7.2 Determinación de cenizas

La caracterización de cenizas se realizó mediante la técnica descrita en la AOAC (2000) (Official Methods of Analysis Association of Official Analytical Chemist. EUA). Se determinó por el método de incineración y gravimetría establecido en la técnica 923.03. Se utilizó 0.5 g de muestra, se realizaron tres repeticiones por cultivar, la base de datos se construyó en base al Cuadro

3.1. El contenido de cenizas provee una estimación de la calidad del almidón. Altos niveles indican contaminación de la muestra. En general, el contenido de cenizas en el almidón no debe exceder de 0.12% (Aristizábal y Sánchez, 2007).

3.7.3 Determinación de azúcares solubles totales

Los azúcares solubles totales se determinaron por medio del método de Antrona de acuerdo con Montreuil *et al.* (1997), con modificaciones para un micro-método. Se utilizó 500 mg por muestra con 3 repeticiones por cultivar, en base al diseño del cuadro 3.1. Se realizaron cuatro extracciones sucesivas con etanol 80% en baño María con temperatura de 80 °C; los extractos obtenidos se secaron en una estufa de aire forzado (Shel Lab. Mod. 1370FX Serial: 1100101 Part.: 9071065 Volts: 120 Amps: 14; Hz: 60 Programación digital Temperatura y tiempo USA) a 60 °C por 24 h. Finalmente los extractos se re-suspendieron con 1 mL de agua destilada para su posterior análisis. En este caso debido a que las concentraciones resultantes fueron bajas no se realizó ninguna dilución para su determinación. Para la curva de calibración se utilizó glucosa como estándar en un intervalo de concentración de 0-250 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Se prepararon los tubos estándar, las muestras y los blancos (los blancos indican la referencia para medir en el espectrofotómetro desde cero, en este caso los blancos fueron tubos preparados con cero de concentración de glucosa para marcar el cero en la curva estándar). Las determinaciones de azúcares solubles totales se detectaron mediante un espectrofotómetro UV-VIS (Thermo Evolution 300) a una absorbancia de 625 nm. Los contenidos de azúcares fueron expresados en $\text{g}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ de MS. Se realizaron tres repeticiones por colecta. Los almidones puros preferiblemente no deben de contener azúcares solubles (Aristizábal y Sánchez, 2007).

3.7.4 Determinación de proteína total

Se hicieron las determinaciones de proteína total por el método Kjeldahl, el cual consta de tres etapas: digestión, destilación, y valoración. En los tubos de digestión se agregaron 0.4 g de muestra (se realizaron tres repeticiones por cultivar en base al Cuadro 3.1), 3.5 mL de ácido sulfúrico y 0.8 g de sales digestoras, se taparon los tubos con la trampa de vapores conectada al matraz con la solución de NaOH 1N para neutralizar los gases. El equipo se fijó a una temperatura de 350°C, y los tubos se revisaron cada 20 minutos, hasta que cada muestra se digirió por completo. Primero se formó una coloración negra y finalmente quedó de un color verde. Los tubos se sacaron

del digestor y se dejaron enfriar 20 minutos. Cada muestra se colocó en el equipo destilador programado para suministrar 12 mL de agua y 10 mL de ácido bórico a 4%. En la probeta donde se realizó la captura resultante se adicionaron previamente 3 gotas de la solución indicadora Tashiro Shiro. Se sacó la muestra de la probeta donde se capturaba el NH_3 combinado con el ácido bórico, se vació todo al matraz Erlenmeyer. Finalmente, la solución se tituló con HCl 0.1 N gota a gota, esperando el vire de color de verde a rosa-morado hasta que el color se estabilizó. Se realizaron 3 repeticiones por cultivar. El equipo utilizado fue una unidad de digestión Kjeldahl (modelo k-424 marca Büchi) y un destilador de nitrógeno amoniacal (modelo k-350, marca Büchi). Se realizaron tres repeticiones por colecta. Como medidas de referencia, el contenido de proteína total en el almidón no debe exceder de 0.064% (Aristizábal y Sánchez, 2007).

3.7.5 Determinación de lípidos

La caracterización de lípidos se realizó mediante la técnica descrita en la AOAC (2000) (Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemist. EUA.). Se evaluó por el método de extracción con hexano en equipo Soxhlet establecido en la técnica 920.39. Se tomaron muestras de 0.5 g, se realizaron seis repeticiones por colecta, re promediando para registrar tres. En este método, las grasas de la muestra son extraídas con hexano y evaluadas como porcentaje del peso después de evaporar el solvente. Los reactivos, materiales y equipo fueron: Hexano, aparato de extracción Soxhlet (marca Tecni-Lab, modelo VH-60), horno de laboratorio ajustado a 80°C (Shel Lab. Mod. 1370FX Serial: 1100101 Part.: 9071065 Volts: 120 Amps: 14; Hz: 60 Programación digital Temperatura y tiempo USA), desecador, guantes de asbesto, sobres de papel filtro preparados con 0.5 g de muestra de almidón extraído en el laboratorio.

Procedimiento:

1. Se sacó del horno los matraces de extracción sin tocarlos, con guantes, se dejaron enfriar en un desecador y pesaron con aproximación de miligramos.
2. Se colocó el sobre con muestra en la unidad de extracción. Se conectó al extractor el matraz.

4. Se llevó a ebullición y ajustó el calentamiento de tal manera que se obtengan alrededor algunos reflujos. Como la duración de la extracción depende de la cantidad de lípidos en la muestra; para este caso se emplearon 6 horas.

5. Al término, se evaporó el hexano. Se colocó el matraz en el horno por 24 h a 80°C para eliminar el hexano por completo. Se dejó enfriar los matraces en un desecador y se pesaron con aproximación de miligramos.

Los cálculos fueron: A = Peso del matraz limpio y seco (g); B = Peso del matraz con grasa (g); C = Peso de la muestra (g); Contenido de lípidos crudos (%) = $100((B - A)/C)$.

Como referencia, el contenido de lípidos debe ser inferior al 1% (Aristizábal y Sánchez, 2007).

3.8 Medición de pH

La medición del pH se realizó por triplicado en la harina y almidón de cada cultivar de haba. Se utilizó 0.5 g de harina o almidón (se realizaron tres repeticiones por cultivar en base al Cuadro 3.1), y se agregó 2.5 mL de agua destilada hervida, durante 30 minutos, las muestras se agitaron cada 5 min y finalmente se tomó la lectura en un potenciómetro (marca HANNA Instruments, modelo pH211) calibrado a dos puntos (4.0 y 7.0) de acuerdo a Mabon (1993). El valor del pH en un almidón nativo debe estar entre 6.0 y 6.5.

El valor del pH y de la acidez titulable son buenas medidas del grado de fermentación del almidón. El pH disminuye a 4.0 cuando sucede una fermentación ácida. El crecimiento de hongos libera amoníaco e incrementa el valor del pH.

3.9 Propiedades funcionales

3.9.1 Determinación de claridad

Se realizó una adaptación según Gani *et al.* (2010). Se realizaron tres repeticiones por cultivar en base al diseño del cuadro 3.1. Se hicieron suspensiones de almidón al 4% (p/v) en tubos de fondo redondo, se pusieron en agua en ebullición por 30 min, agitando los tubos cada 5 min, además se utilizaron agitadores magnéticos. Se dejó enfriar a temperatura ambiente. Las muestras

fueron refrigeradas a 6 °C por 72h y cada 24 h se determinó la transmitancia a 650 nm contra un blanco de agua por medio de un espectrofotómetro UV-VIS marca Thermo Evolution 300 BB. Se realizaron 3 repeticiones por duplicado para cada cultivar, para cada suspensión se utilizaron muestras de 400 mg de almidón puro extraído en el laboratorio. Como referencia el valor de la claridad en pastas de almidón varía entre 12.5-95 por ciento (Aristizábal y Sánchez 2007)

3.9.2 Índices de absorción de agua (IAA), solubilidad (ISA) y poder de Hinchamiento (P_Hin)

Para la determinación de estos índices se aprovechó la capacidad de absorción del agua del gránulo de almidón y la exudación de las fracciones de almidón a medida que se incrementaba la temperatura de las suspensiones de almidón. Las mediciones se realizaron de acuerdo a una adaptación del protocolo de Anderson *et al.* (1969). Se realizaron tres repeticiones por cultivar en base al diseño del cuadro 3.1.

3.10 Propiedades físicas

3.10.1 Medición de color

La determinación del color se realizó en el almidón aislado de las colectas de haba con un colorímetro Color Flex (Hunter Lab); se registraron los parámetros: L*(luminosidad), a*(tonalidades de verde a rojo) y b*(tonalidades de amarillo a azul). El equipo se calibró con los discos negro y blanco, las lecturas se tomaron en todas las muestras, moviendo entre las lecturas la cabeza de medición de forma aleatoria a los diferentes puntos de la superficie de la muestra. Se realizaron tres repeticiones por cada colecta. El color reflejado se describió a partir de los parámetros: L*, a* y b*. Se obtuvieron tres repeticiones por cultivar, se calculó la variación total entre muestras (ΔE), definido por la siguiente ecuación:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$$

Dónde:

ΔL = Valor estándar – valor de muestra = 93.12 - valor muestra.

Δa = Valor estándar – valor de muestra = -1.09 - valor muestra.

$\Delta b = \text{Valor estándar} - \text{valor de muestra} = 1.33 - \text{valor muestra}$.

Además, se calculó el índice de blancura (IB), que representa la blancura total de la muestra, de acuerdo a ecuación descrita por Chin-Lin et al. (2003):

$$IB = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}}$$

3.10.2 Morfología de gránulos de almidón

La determinación de la morfología del gránulo de almidón se realizó por medio de un Microscopio Electrónico de Barrido (JEOL- JSM 6390) con voltaje de 10 a 15 Kv.

Se inició con la limpieza y preparación de los porta-muestras usando una cinta doble adhesiva. Las muestras de almidón seco se esparcieron cuidadosamente sobre los porta-muestras con ayuda de un pincel limpio y un microscopio óptico. Posteriormente se recubrieron con oro por medio de un ionizador de metales marca JEOL Mod. Find Coat Ion Sputter JFC – 1100, y se procedió a analizarlas en el microscopio. La medición de los gránulos se hizo a partir de microimágenes panorámicas a 350 aumentos y por triplicado para cada colecta, como se ejemplifica en la figura 3.1.

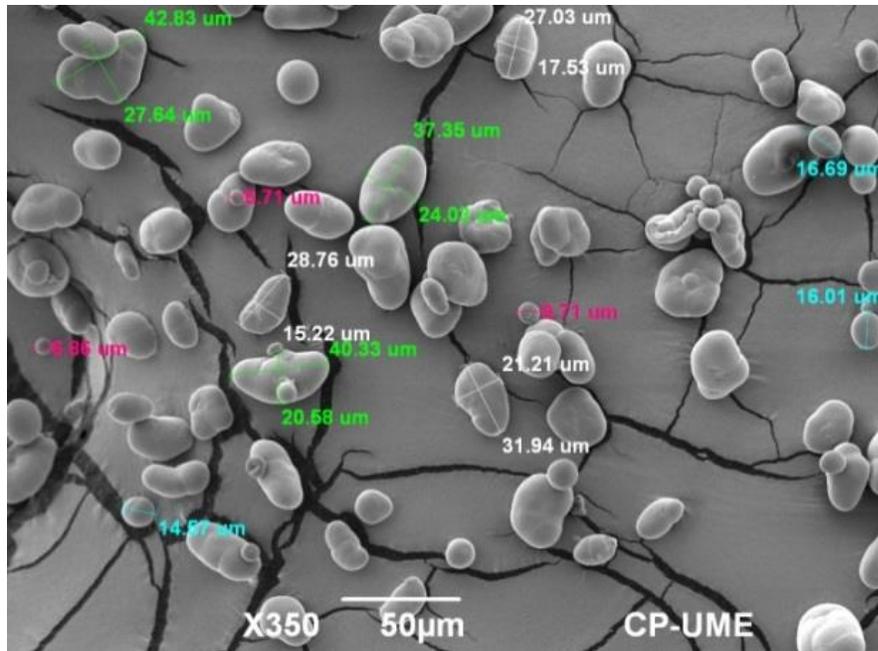


Figura 3.1 Ejemplo de muestreo de gránulos de almidón para medición y clasificación de tamaños (Colegio de Postgraduados Campus Montecillos. Texcoco, México 2013).

El tamaño de gránulos de almidón se determinó por análisis de imágenes, con el mismo software del microscopio. Se obtuvieron tres microfotografías por colecta, y se utilizaron para medir el tamaño de los gránulos: diámetro mayor, diámetro menor (μm) (en  valos o formas no circulares), diámetro (μm) en formas esféricas, también se calculó la superficie aproximada de los gránulos mediante la fórmula de superficie de un óvalo o círculo respectivamente (μm^2). Se realizó un muestreo de 12 gránulos por imagen abarcando 3 gránulos de los más grandes, 3 menos grandes, 3 medianos, y 3 de los más pequeños. De tal modo, las mediciones en cada imagen se tomaron definiendo 4 clases aproximadas de tamaños, observar la figura 3.1 donde cada color es una clase o tamaño. Con la base de datos obtenida de estas mediciones se realizó una prueba de normalidad, o distribución K-S, y un histograma de frecuencias. Se realizó el análisis pruebas no paramétricas entre las categorías de colectas para los tres factores, colecta, ambiente y año de cosecha (ver arreglo de cuadro 3.1).

En el cuadro 3.3 se muestra una clasificación de tamaños de los gránulos necesaria para hacer los análisis y comparaciones respectivas con una mayor aproximación entre los cultivares y categorías. Adicionalmente se realizaron conteos del total de gránulos en cada imagen muestreada, registrando el número aproximado de gránulos de cada categoría del cuadro 3.3.

Cuadro 3.3 Clasificación de tamaños de gránulos nativos de almidón de haba.

Clase	DM promedio(μm)	Rango (μm)	Dm promedio(μm)	Rango (μm)	Forma
1	38	30-50	25	15-44	Ovalada, o irregular
2	26	13-33	18	10-27	Ovalada
3	17	10-27	15	10-27	Ovalada, y esférica
4	8	5-13	-	-	Esférica

DM = diámetro mayor, Dm = diámetro menor.

Fuente: Elaborado por Gisela Salamanca Bautista

3.11 Análisis estadístico

Para el análisis estadístico, todos los datos obtenidos para todas las variables se consideraron con una distribución normal, a excepción de las variables de la morfología de los gránulos del almidón, todos los valores de las variables fueron determinadas dentro de escalas numéricas continuas y la normalidad se ha corroborado en otras publicaciones. Se utilizó un diseño del experimento completamente al azar. Para el factor ambiente el arreglo experimental fue de dos ambientes, por dos cultivares (Zoapan 2007, Tlachichuca2007, cultivar 89 y 191); para el factor año de cosecha el arreglo fue de tres años de cosecha, con un mismo cultivar, y una misma localidad (2006, 2011, 2012, San Cayetano, cultivar 181); y para el factor cultivar el arreglo fue de siete cultivares en dos localidades en año distinto (Tlachichuca 2007, San Cayetano 2011, cultivares 22, 93, 146, 160, 181, 281, 288). Se realizaron los análisis con los paquetes estadísticos SAS 9, SPSS 20 y JMP 10. Para cada factor (cultivar, ambiente, y año de cosecha) se realizó un análisis de varianza, y para las diferencias estadísticas entre medias de sus categorías respectivas se aplicó la prueba de Tukey con una significancia de 0.05; además se efectuó un análisis de correlación de Pearson con la finalidad de conocer el grado de correlación entre todas variables estudiadas. Dentro del factor cultivar, también se realizó un análisis de componentes principales y de conglomerados. Para la morfología de gránulos se realizaron pruebas de normalidad Kolgomorov-Smirnov con histograma de frecuencias de sus dimensiones diámetro mayor y superficie aproximada, además se realizaron pruebas no paramétricas para comparar las distribuciones de las categorías de los factores de variación cultivar, ambiente y año de cosecha. Para corroborar la diferencia de ambientes (Zoapan y Tlachichuca) se realizó un análisis por conglomerados (ver Figura 4.1). La totalidad de variables del experimento fueron analizadas

conforme al diseño del experimento para los distintos factores cultivar, ambiente, y año de siembra como tal como se observa en el Cuadro 3.1.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Caracterización de ambientes del sitio de cultivo

Esta prueba se realizó para corroborar numéricamente que las categorías de ambiente bajo las cuales se realizaron los análisis para éste factor, realmente son distintas. Al observar el clúster, se confirmó que los ambientes son diferentes (Figura 4.1). Se observa en las tonalidades la gran parte de diferencias.

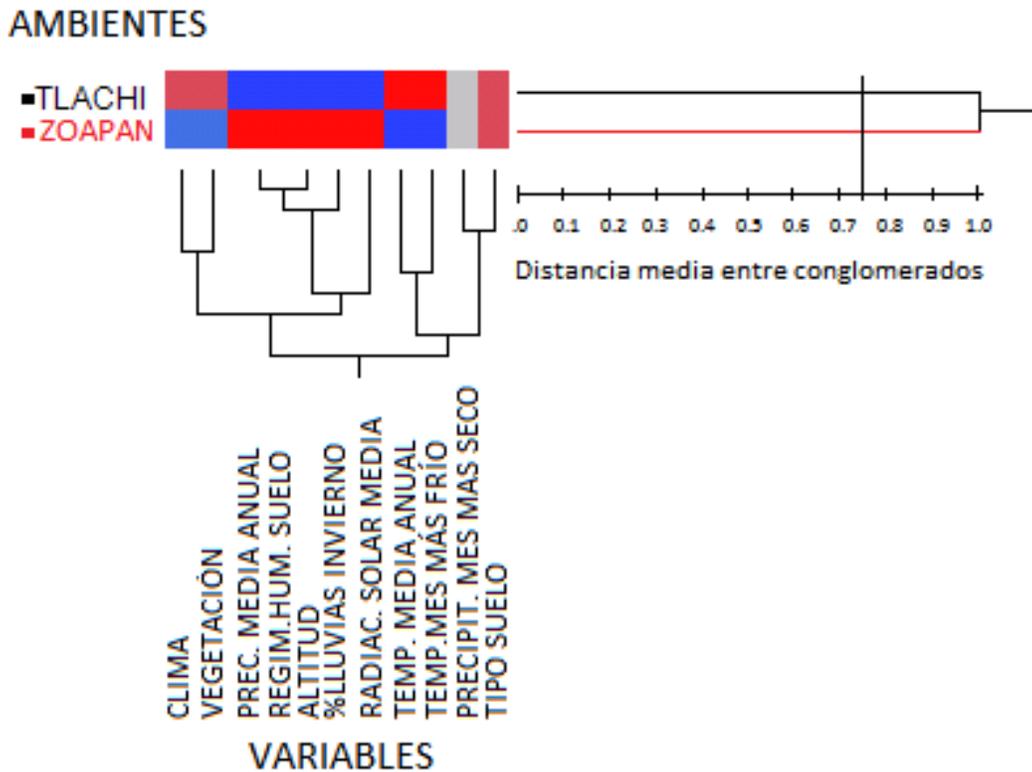


Figura 4.1 Clúster del análisis de caracterización de ambientes. Elaborado por Gisela Salamanca Bautista.

Las únicas similitudes en las variables históricas de ambos ambientes son en el tipo de suelo, ya que ambos son regosoles eutricos, originados de los sedimentos que descienden de las montañas, y también hay similitud en la cantidad de lluvia en el mes más seco. En las restantes

características, Zoapan se caracteriza por ser más fresco y más húmedo, posee un clima semifrío (Cb' (w2)), en contraste con Tlachichuca cuyo clima es templado (C (w1)), esto se observa en los contrastes de temperatura. Se presenta mayor precipitación durante los meses invernales en Zoapan, y sus precipitaciones anuales históricas son también mayores en Zoapan que en Tlachichuca. Como resultado de lo anterior, el régimen de humedad en suelo también es mayor en Zoapan. La altitud de Zoapan es mayor, al igual que la radiación solar media. La vegetación de Zoapan es más boscosa, en comparación de Tlachichuca donde las superficies son más de fin agrícola.

4.2 Caracteres del grano

En el cuadro 4.1 se observan cifras del análisis de varianza del factor cultivar con las respectivas colectas, para los caracteres del grano largo, ancho, grosor medio (medias expresadas en mM), peso de 100 granos (g), y volumen de 100 granos (mL). Se comprobó que estadísticamente si existe diferencia entre las colectas del factor cultivar sobre todo para los caracteres de largo, ancho, peso, volumen ($pr < 0.001$), y con menor nivel de significancia en el grosor ($pr < 0.01$).

Cuadro 4.1 Análisis de varianza para los caracteres del grano de haba, factor cultivar, realizado en siete colectas de cinco cultivares (22Cb, 93Ca, 146Cm, 160Ca, 181Tp, 281Ta, 288Ta) tanto en San Cayetano 2011, como en Tlachichuca 2007.

Var.	Gl	Media	Coeficientes de variación	Factor cultivar		
				Cultivar	Localidad	Error
Largo (mM)	55	23.676	3.174	22.557 ***	0.071	0.565
Ancho (mM)	55	16.637	2.922	9.206 ***	0.488	0.236
Grosor (mM)	55	7.315	3.079	0.170 **	1.754 ***	0.051
Peso 100 s. (g)	55	185.659	3.957	5010.063 ***	1072.050 ***	53.964
Vol. 100 s. (mL)	55	179.340	3.696	5167.161 ***	196.875 *	43.946

*** $Pr < 0.001$, ** $Pr < 0.01$, * $Pr < 0.05$. El arreglo de todos los cultivares analizados se observan en el Cuadro 3.1. Imágenes de cada denominación de cultivar y colecta se observan en la Figura 1 A, ver Anexos. Var = Variable, Gl = Grados de libertad totales. El Peso y el volumen (Vol.) son de 100 semillas.

En la Figura 4.2 se muestran gráficas radiales con la posición relativa de las medias por categoría, en cada eje se muestran valores relativos de una variable, en conjunto se muestran las variables de cada apartado, y por factor (cultivar, ambiente, y año de cosecha, según el diseño experimental de la Cuadro 3.1), esto para identificar visualmente y comprender la posiciones relativas de todas las categorías en cada tema (las escalas se componen del porcentaje del valor máximo respectivo por variable, y los orígenes son mayores de 0 para facilitar la visualización), se muestran cifras con valores absolutos de las medias máximas y mínimas por variable. Además se expresan las letras con diferencias significativas de la Prueba Tukey.

En las líneas más externas de las Figuras 4.2 A y B, se evidencia que el cultivar Tarragona amarilla (Ta) de la colecta 288 es el de mayores dimensiones del grano, tanto de Tlachichuca 2007 (Figura 4.2 A) como de San Cayetano 2011 (Figura 4.2 B). Los granos de menores dimensiones son de los cultivares Cochinera blanca (Cb), colecta 22, y Cochinera morada (Cm), colecta 146, tanto de Tlachichuca 2007 como de San Cayetano 2011 (Figuras 4.2 A y B).

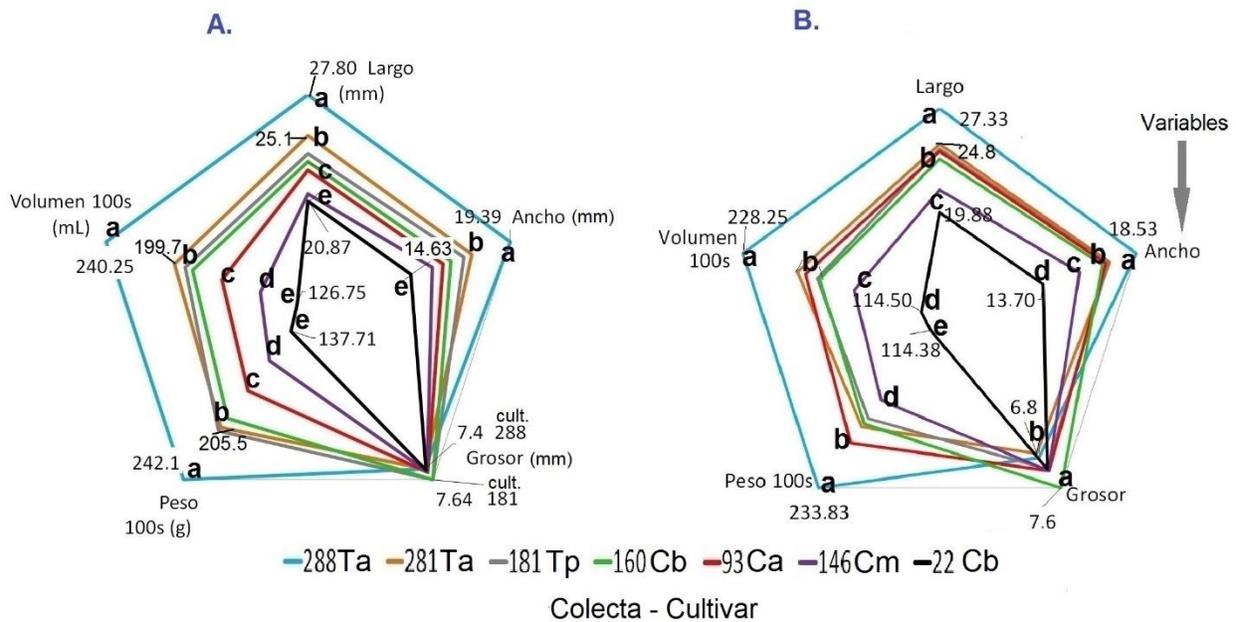


Figura 4.2 Posición relativa de medias o promedios en variables de caracteres de grano para las categorías de cultivares, granos de la localidad A. Tlachichuca, 2007, y B. San Cayetano 2011, Puebla. Ta = cultivar Tarragona amarilla, Tp = Tarragona parralleña, Cb = Cochinera blanca, Ca = Cochinera amarilla, Cm = Cochinera morada.

El grosor del grano difiere en su comportamiento en comparación con los otros caracteres. Dentro de las localidades se observa que no necesariamente el grano más largo, es el más grueso,

sino que algunos granos de longitud media o los más pequeños son de mayor grosor. Para el grosor se encontró una diferencia estadística de mayor nivel de significancia entre las dos localidades (Tlachichuca 2007 y San Cayetano 2011, Ver Figura 4.3), que entre cultivares, tal como se observa en el Cuadro 4.1. Los cultivares de Tlachichuca 2007 son significativamente de mayor grosor respecto a los de San Cayetano 2011, lo que también condujo a un mayor peso. Esto indica que en éste caso se calculó una probabilidad con mayor nivel de significancia de que el grosor del grano fue influido por las diferencias ambientales entre ambas localidades, que a su vez fueron cultivadas en distintos años de cosecha, 2007, y 2011. (Figura 4.3A).

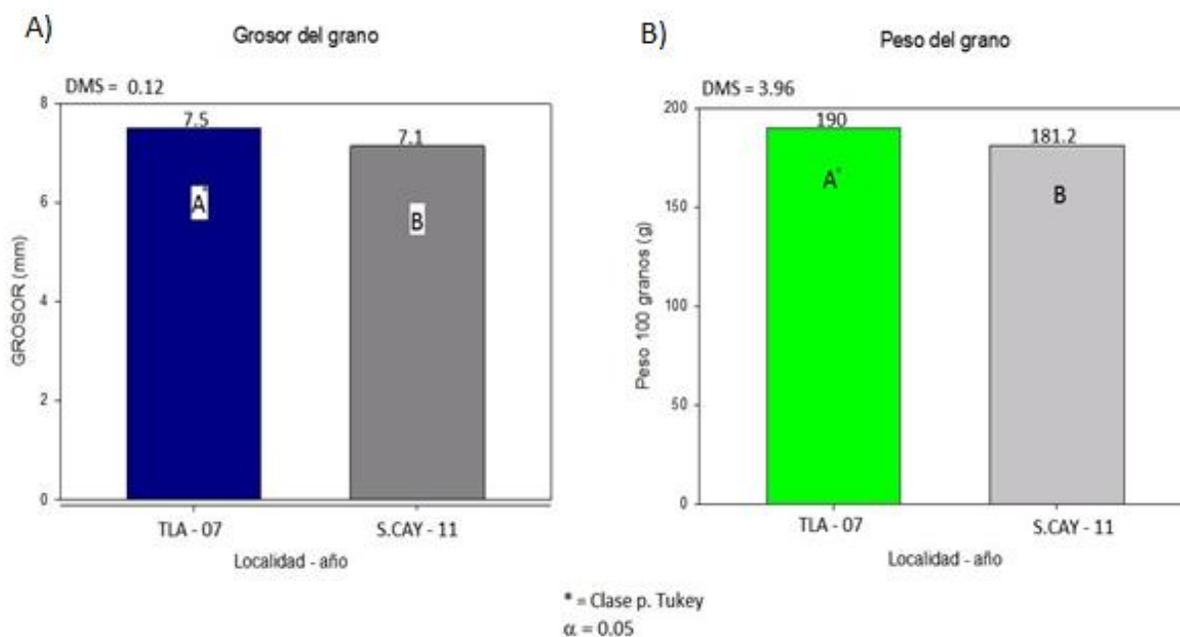


Figura 4.3 Histogramas de promedios del A) grosor y B) peso de grano (100 semillas) evaluados en dos localidades, Tlachichuca 2007 (TLA - 07), y San Cayetano 2011 (S.CAY - 11). Se evaluaron en ambas siete coletas de cinco cultivares (22Cb, 93Ca, 146Cm, 160Cb, 181Tp, 281Ta, 288Ta).

En cuanto a diferencias ambientales, las condiciones meteorológicas de San Cayetano 2011, en comparación con Tlachichuca 2007 (como se observa en el cuadro 3 A, anexos) fueron un poco más húmedas, pero con temperaturas más bajas sobre todo en tiempos cercanos a la cosecha (noviembre).

En cuanto a factores agronómicos se encontró que el desarrollo del grano y sus dimensiones alcanzadas, son influenciados por el manejo o condición del suelo, disponibilidad de humedad

(condiciones de riego o temporal, estrés hídrico), disponibilidad de nitrógeno y fertilización, condiciones durante la polinización, calidad del amarre de fruto. De los factores más importantes, la radiación solar y grado de eficiencia del cultivar en la utilización de ésta luz para realizar la conversión a biomasa, en donde se involucra la tasa fotosintética, que en combinación con el índice de cosecha se asciende a una cantidad determinada de almacenamiento de almidón en los granos. Todo esto promueve la elongación de vainas, número, y llenado del grano (Brevedan *et al.* 2007; McGregor 1976; Klucinec y Keeling 2005; Pichardo-Riego *et al.* 2013). En todo lo anterior, también depende la respuesta del cultivar.

En cuanto al análisis del factor ambiente, en el cuadro 4.2 se observan los resultados de la evaluación de dos cultivares bajo dos ambientes cercanos. Los dos cultivares comparados fueron Tarragona amarilla, colecta 89, y Tarragona parraleña, colecta 181, bajo los ambientes de Zoapan y Tlachichuca del estado de Puebla, cultivados ambos casos en el 2007.

Cuadro 4.2 Análisis de varianza para los caracteres del grano de haba para el factor ambiente, realizado en dos cultivares (89Ta, 181Tp), en dos ambientes (Tlachichuca y Zoapan 2007).

Variable	Factor ambiente			Cuadrados medios			
	Gl	Media	Coefficientes de variación	Cultivar	Ambiente	Ambiente X Cultivar	Error
Largo (mm)	15	24.064	3.328	6.388 **	3.106 *	0.166	0.641
Ancho (mm)	15	16.922	3.155	1.870 *	1.066	0.381	0.285
Grosor (mm)	15	7.560	2.862	0.000	0.123	4.000E-04	0.047
Peso (g)	15	201.102	2.546	874.828 ***	2592.592 ***	31.276	26.223
Volumen (mL)	15	193.250	4.270	1936 ***	1225 **	81.000	68.083

*** Pr < 0.001, ** Pr < 0.01, * Pr < 0.05. Ver cultivares en Cuadro 3.1. Imágenes de éstos en Figura 1A, Anexos.

Para este arreglo se detectaron diferencias estadísticas mayores principalmente para el peso y volumen del grano, como se ve en cuadro 4.2. No se encontró diferencia estadística en el grosor del grano. En la figura 4.4 se muestran las posiciones relativas de las medias o promedios de las dimensiones del grano en los dos ambientes evaluados.

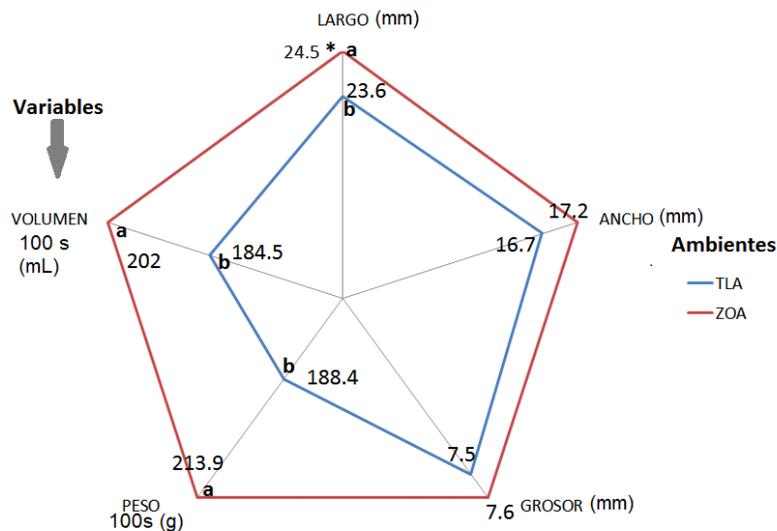


Figura 4.4 Posición relativa de medias en variables de caracteres de grano, para las categorías de ambientes, cosechas de Tlachichuca 2007(TLA), y Zoapan 2007(TLA), Puebla.

En la Figura 4.5 se observa que los promedios del grosor desglosados en las combinaciones posibles de ambos cultivares, en ambos ambientes, tampoco tuvieron diferencias estadísticas significativas.

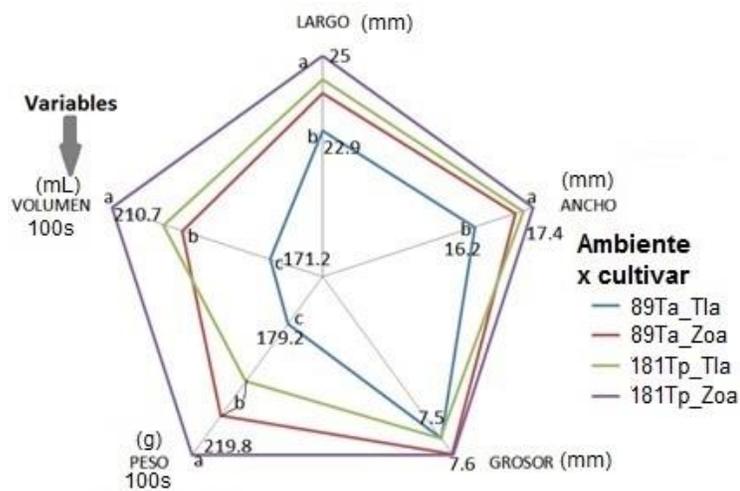


Figura 4.5 Posición relativa de medias de combinaciones posibles de cultivar por ambiente, cultivares 89 y 181, en ambientes Tlachichuca (TLA) y Zoapan (ZOA), ambos en 2007.

En la Figura 4.6 se observa que los promedios en las dimensiones del grosor no varían, si se comparan los promedios por cultivar en ambos ambientes (promedio del cultivar 89 en Tlachichuca y Zoapan, promedio de cultivar 181 en Tlachichuca y Zoapan). Lo que indica que el grosor de estos dos cultivares es similar, sería conveniente comparar cultivares y/o ambientes más diversos, para tener una mejor apreciación de la influencia del ambiente sobre el grosor del grano de haba. Cabe reiterar que en el caso del análisis del factor cultivar, donde se comparan siete cultivares en Tlachichuca 2007 y San Cayetano 2011, la diferencia en el grosor fue notoria entre ambas localidades, con una diferencia altamente significativa.

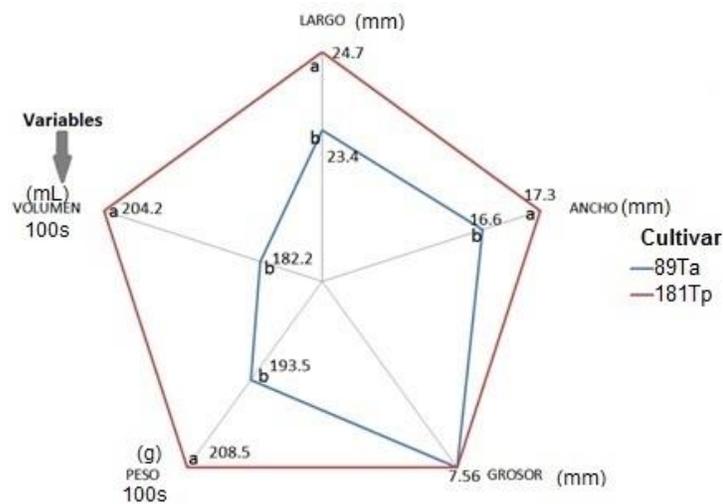


Figura 4.6 Posición relativa de medias de dos cultivares (Tarragona amirilla colecta 89, y Tarragona parraleña 181) sembradas en dos ambientes (Zoapan y Tlachichuca 2007), promedios por cultivar.

En cuanto al análisis por año de cosecha, en el Cuadro 4.3 se observan las diferencias para los distintos años de cosecha, 2006, 2011, 2012, en San Cayetano, en el cultivar Tarragona parraleña-181 (Ver arreglo del experimento en Cuadro 3.1). Se evaluó la respuesta de un mismo cultivar en un mismo ambiente, en tres años distintos, excluyendo factores de variación como los que se originan por ambientes o lugares distintos, así como las diferencias entre cultivares, esto para ver qué efecto tubo sólo el tiempo de cosecha sobre el cultivar 181, que es de los cultivares más importantes de la región. Las diferencias estadísticas significativas fueron alcanzadas en todos los caracteres a excepción del grosor de grano, como se ve en el Cuadro 4.3 y la Figura 4.7.

Cuadro 4.3 Análisis de varianza para los caracteres del grano de haba para el factor año de cosecha (2006, 2011, 2012) en el cultivar ‘Tarragona parraleña’ colecta 181.

Variable	Gl	Media	Coeficientes de variación	Cuadrados medios	
				Año	Error
Largo (mm)	11	24.117	2.546	8.977 ***	0.377
Ancho (mm)	11	16.550	2.526	3.577 ***	0.175
Grosor (mm)	11	7.196	3.025	0.152	0.047
Peso (g)	11	174.008	4.701	2453.435 ***	66.903
Volumen (mL)	11	169.750	5.994	2169.250 ***	103.528

*** Pr < 0.001, Pr < 0.01, * Pr < 0.05. El arreglo de todas los cultivares analizados se observan en el Cuadro 3.1. Las imágenes de los cultivares se observan en la Figura 1 A, Anexos.

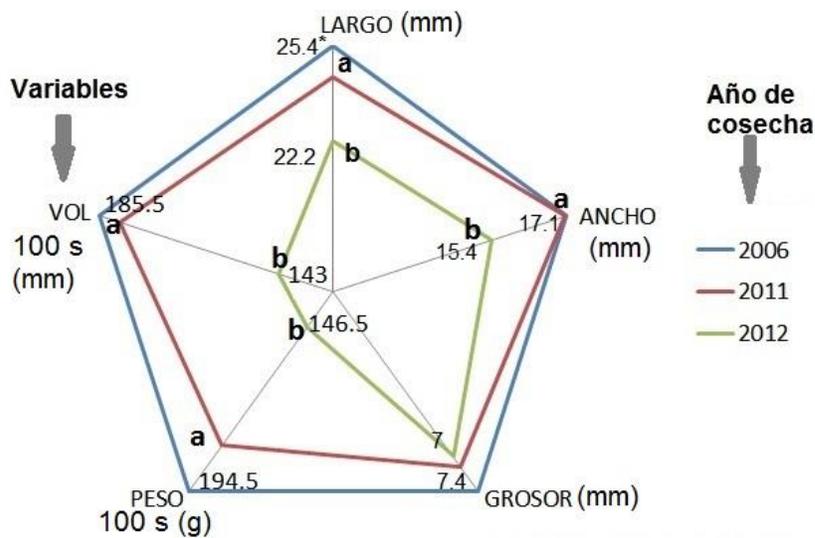


Figura 4.7 Posición relativa de medias de variables de caracteres de grano en un solo cultivar (181Tp) en tres años de cosecha (2006, 2011, 2012) en San Cayetano, Puebla.

Resultados muestran que del año 2006 al 2012, los granos del cultivar ‘Tarragona parraleña’ colecta 181 redujeron sus dimensiones significativamente (Figura 4.7). Díaz-Bautisa *et al.* (2008) afirman que entre las características ambientales más importantes en el cultivo de haba está la humedad del suelo. El estrés originado por déficit hídrico, nutrición, o temperatura durante las fases reproductivas, reduce la tasa fotosintética que repercute en el rendimiento final de carbohidratos, (Pichardo-Riego *et al.*, 2013), y conversión a biomasa (Klucinec y Keeling 2005). De acuerdo a tales factores, las diferencias climáticas de las distintas temporadas, pudieron ser decisivas en el desarrollo del grano, ya que hubo una precipitación menor en el 2012 (510 mm acumulados en la temporada de marzo a noviembre del 2012, 685 mm en 2011, 694 en 2006) y temperaturas mínimas más bajas durante la temporada del 2011, y 2012 (0°C en 2006, -1.5 en

2011, y -1 en 2012), tal como se aprecia en el Cuadro 2A (Anexos). Tales condiciones de temperatura y disponibilidad de humedad concuerdan también con un menor desarrollo del grano en los años 2011 y 2012. En éste caso, para el cultivar Tarragona parraleña-181, los años de cosecha no influyeron significativamente sobre el grosor, a diferencia de los demás caracteres.

4.3 Rendimiento de extracción de almidón a partir de la harina de haba.

En el Cuadro 4.4 se observan cifras resultantes del análisis de varianza del factor cultivar para el rendimiento de almidón extraído tanto en peso seco (p.s.), como en peso húmedo (b.h.). Tal como se expone en el cuadro 3.1, se analizaron un conjunto de siete colectas de cinco cultivares (22Cb, 93Ca, 146Cm, 160Cb, 181Tp, 281Ta, 288Ta) en dos localidades, Tlachichuca 2007, y San Cayetano 2011. Se observa que se calculó una probabilidad significativa de que el cultivar ejerce influencia sobre el rendimiento de extracción de almidón en peso seco, y en peso húmedo, sólo hubo diferencia estadística significativa entre el rendimiento de las dos localidades, en peso seco (%p.s.), ver Figura 4.8.

Cuadro 4.4 Análisis de varianza para el rendimiento de extracción de almidón a partir de harina de granos sin testa, factor cultivar, se analizaron siete colectas de cinco cultivares (22Cb, 93Ca, 146Cm, 160Cb, 181Ta, 281Ta, 288Ta) en dos localidades, Tlachichuca 2007 y San Cayetano 2011.

Variable	Gl	Media	Cultivar			
			Coeficientes de variación	Cuadrados medios		
				Cultivar	Localidad	Error
Rendimiento (%b.h.)	41	32.85	9.91	23.64 *	35.40	10.61
Rendimiento (%p.s.)	41	36.22	11.48	37.99 *	76.06 *	17.30

*** Pr < 0.001, ** Pr < 0.01, * Pr < 0.05. b.h. = base húmeda, m.s. = materia seca. El arreglo de todas los cultivares analizados se observan en el Cuadro 3.1. Las imágenes de los cultivares se observan en la Figura 1 A, Anexos.

En la figura 4.8 se observa el rendimiento del almidón extraído expresado en peso seco (% p.s.), donde los cultivares con mayor rendimiento de extracción de almidón fueron el Tarragona amarilla-281 con 43.7%, y el Cochinerá blanca-22 con 39.3%, ambos cultivados en San Cayetano 2011, en contraste, el cultivar Tarragona amarilla de la colecta 288 (30.5%), y 281 (28.7%), ambos de Tlachichuca 2007 presentaron los rendimientos mas bajos. Cabe mencionar que una de los cultivares con mayor rendimiento es el 22 de San Cayetano, el cuál es el de dimensiones más pequeñas. En el cultivar 281 se presentó una excepción, ya que fue el único que tuvo una respuesta significativamente diferente entre ambas localidades (pr < 0.05). El rendimiento de almidón del

cultivar 281 en San Cayetano (43.7% m.s.) fue significativamente mayor que el mismo cultivar sembrado en Tlachichuca (28.7% m.s.).

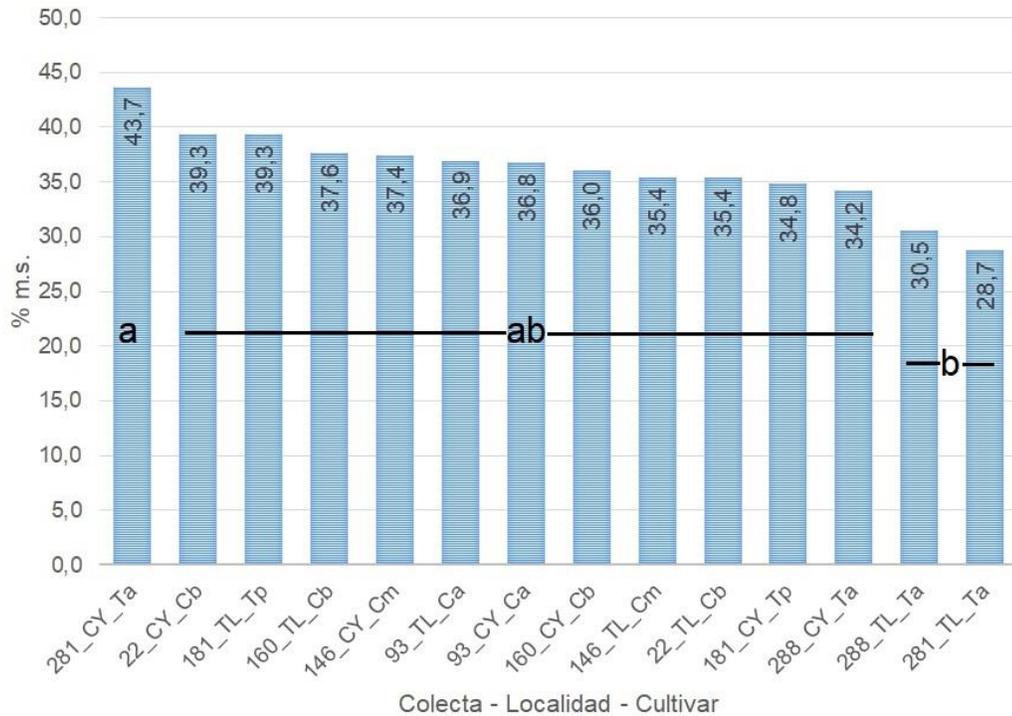


Figura 4.8 Medias de rendimientos de extracción de almidón, a partir de harina de granos (sin testa) de siete colectas de cinco cultivares, procedentes de la localidad de Tlachichuca 2007, y San Cayetano 2011. Letras distintas significan diferencias de la prueba de Tukey ($P < 0.05$). Porcentaje de rendimiento en base húmeda (b.h.).

Al respecto, se ha señalado en otras especies de leguminosas como frijol que una mayor disponibilidad de humedad en el suelo puede aumentar el rendimiento de almidón en algunos genotipos (Ovando-Martínez *et al.* 2011), lo cual coincide en este caso, donde la precipitación acumulada en la temporada marzo-noviembre de San Cayetano 2011 (685 mm) fue mayor que en Tlachichuca 2007 (529 mm), ver Cuadro A3 y Figura 4.9.

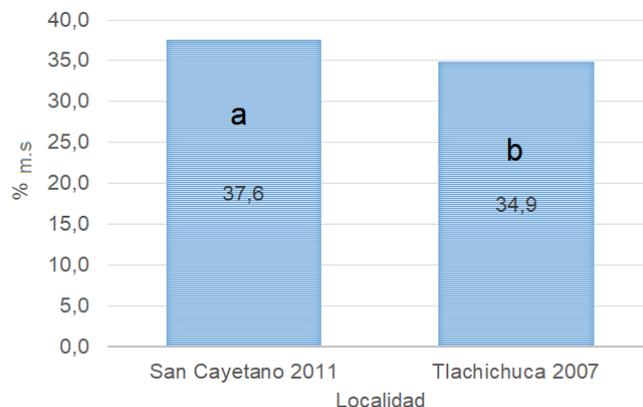


Figura 4.9 Promedios del rendimiento de almidón en porcentaje de materia seca por localidad, (22, 93, 146, 160, 181, 281, 288) sembrados en dos localidades distintas, Tlachichuca 2007 (Tla-07), y San Cayetano 2011 (S.Cay-11), *b.h. = base húmeda. Letras indican diferencias Tukey $\alpha = 0.05$.

En el caso del análisis del factor ambiente, se observa en el Cuadro 4.5 y Figura 4.10 que no hubo diferencia significativa del rendimiento de almidón entre los ambientes de Tlachichuca 2007, y Zoapan 2007. Sólo se presentó diferencia estadística significativa entre los promedios de ambos cultivares, 89 y 181 (Ver Cuadro 4.5) en base seca (b.s.), siendo el rendimiento promedio del cultivar 181 significativamente superior que el cultivar 89 (38.1, 33.7% respectivamente, $pr < 0.05$).

Cuadro 4.5 Análisis de varianza para el rendimiento de extracción de almidón a partir de harina sin desengrasar de granos secos sin testa, factor ambiente (Zoapan y Tlachichuca 2007), en los cultivares 89Ta, 181Tp.

Variable	Gl	Ambiente					
		Media	Coeficientes de variación	Cuadrados medios			
				Cultivar	Ambiente	X Cultivar	Error
Rendimiento (b.h.)	11	32.960	9.780	45.942	5.713	2.017	10.388
Rendimiento (b.s.)	11	35.891	8.990	59.096 *	9.275	0.837	10.411

*** $Pr < 0.001$, ** $Pr < 0.01$, * $Pr < 0.05$. b.h. = base húmeda, b.s. = base seca. El arreglo de todas los cultivares analizados se observan en el Cuadro 3.1. Las imágenes de los cultivares se observan en la Figura 1A, Anexos.

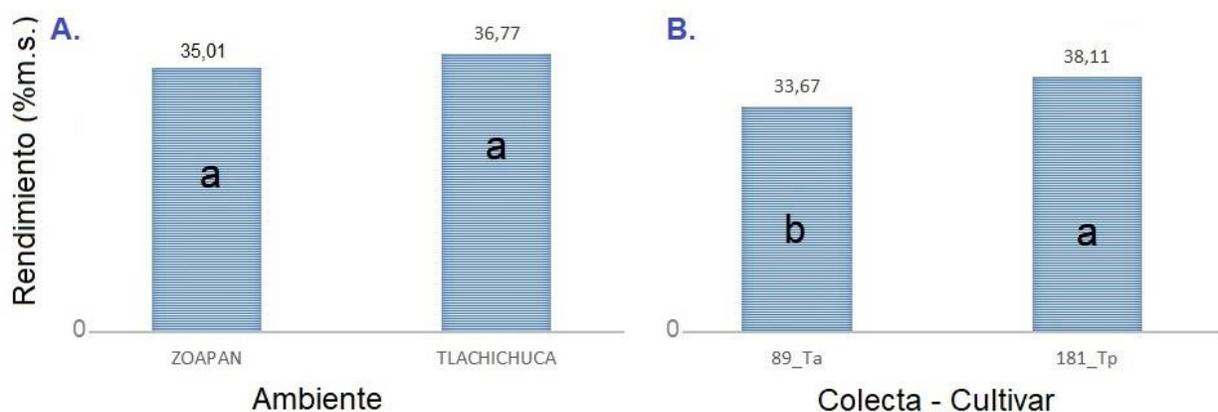


Figura 4. 10 A. Promedios de rendimiento de almidón de dos cultivares (89Ta y 181Tp) evaluados en dos ambientes distintos Zoapan 2007, y Tlachichuca 2007; B. Promedios por cultivar. Letras indican diferencias Tukey $\alpha = 0.05$.

El promedio de rendimiento de almidón en peso seco no tuvo diferencia significativa entre Zoapan y Tlachichuca (Figura 4.10 A), cabe mencionar que en Zoapan durante la temporada de cultivo se presentó una mayor precipitación (662 mm), que en Tlachichuca (529 mm), aunque las temperaturas mínimas fueron inferiores en Zoapan (Oct. 3.8 °C, Nov. 1 °C en Tlachichuca; Oct 1.8 °C, Nov. 0.5 °C en Zoapan, Cuadro 1A, Anexos). En este caso, para éstos cultivares, las diferencias ambientales no fueron un factor decisivo como para generar diferencia estadística en el rendimiento.

En el Cuadro 4.6 se observa que el año de cosecha tampoco ejerció influencia significativa sobre el rendimiento de extracción de almidón.

Cuadro 4.6 Análisis de varianza para el rendimiento de extracción de almidón a partir de harina sin desengrasar de granos secos sin testa, factor año de cosecha (2006, 2011, 2012), en el cultivar 181Tp.

Variable	Gl	Media	Año de cosecha		
			Coefficientes de variación	Cuadrados medios Año	Error
Rendimiento b.h.	8	34.573	8.564	22.538	8.766
Rendimiento b.s.	8	38.034	10.474	28.006	15.870

*** Pr < 0.001, ** Pr < 0.01, * Pr < 0.05. b.h = base húmeda, b.s. = base seca.

El arreglo de todas los cultivares analizados se observan en el Cuadro 3.1. Las imágenes de los cultivares se observan en la Figura 1A, Anexos.

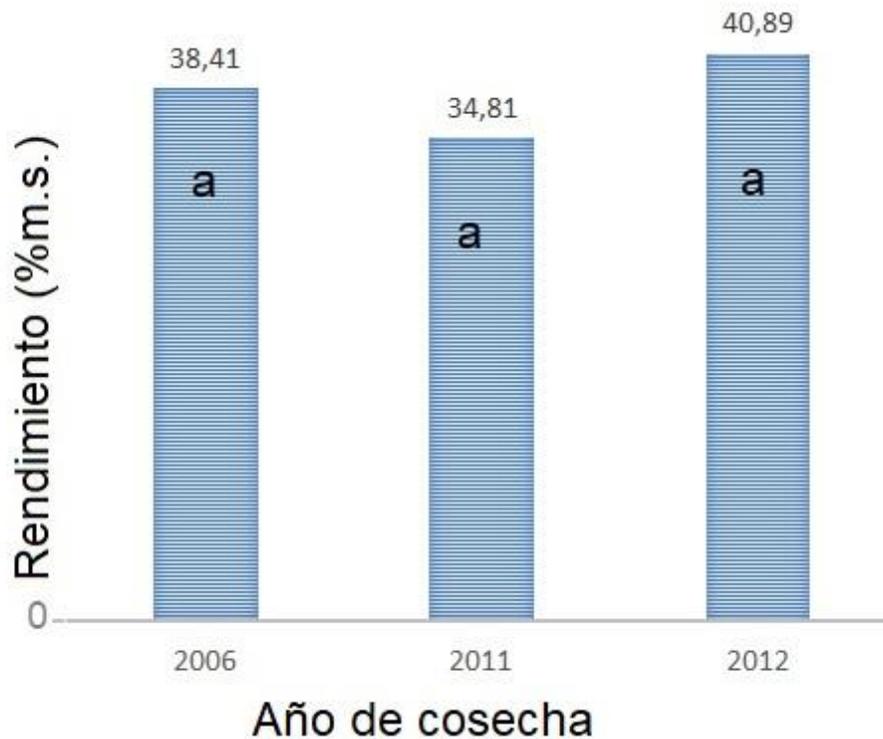


Figura 4.11 Promedios de los rendimientos de almidón de granos del cultivar 181 en la misma localidad (San Cayetano) en tres años distintos. Letras indican diferencias Tukey $\alpha=0.05$.

Se observa en la Figura 4.11 las diferencias en los porcentajes de rendimiento de almidón de acuerdo al año de cosecha, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas entre años de cosecha.

4.4 Contenido de almidón total y propiedades del almidón nativo de haba

4.4.1 Almidón total

Al éste respecto, los niveles de almidón total detectados fueron aceptables, se encontraron en un rango de 77.5 a 100%p.s. Se muestra en el cuadro 4.7 los porcentajes de almidón total en base húmeda (b.h.) y base seca por cultivar (p.s.).

Cuadro 4. 7 Porcentajes de almidón total en el almidón nativo de haba en todos los cultivares.

Colecta-Cultivar_Localidad- Año	Almidón total (%b.h.)	Almidón total (%p.s.)
Factor cultivar, San Cayetano 2011		
93Ca_CY11	80.54 ± 5.29	90.75 ± 6.23
181Tp_CY11	81.19 ± 3.94	89.8 ± 4.79
160Cb_CY11	82.97 ± 7.08	89.68 ± 8.38
22Cb_CY11	79.84 ± 2.39	86.87 ± 2.61
288Ta_CY11	76.61 ± 1.21	86.71 ± 1.44
146Cm_CY11	76.75 ± 3.10	83.79 ± 3.32
281Ta_CY11	69.87 ± 5.12	81.39 ± 5.81
Factor cultivar, Tlachichuca 2007		
93Ca_TL07	76.35 ± 1.73	86.63 ± 0.07
160Cb_TL07	77.87 ± 2.65	84.58 ± 2.68
288Ta_TL07	78.84 ± 1.79	84.54 ± 2.35
146Cm_TL07	78.09 ± 2.12	83.2 ± 2.23
281Ta_TL07	76.76 ± 4.9	81.19 ± 6.03
181Tp_TL07	72.67 ± 1.73	79.24 ± 2.26
22Cb_TL07	70.88 ± 3.80	77.48 ± 4.88
Factor ambiente		
89Ta_TL07	77.4 ± 7.98	85.06 ± 8.54
181Tp_ZOA07	76.8 ± 9.35	83.53 ± 9.06
89Ta_ZOA07	73.19 ± 7.66	78.78 ± 8.57
181Tp_TLA07	71.84 ± 1.73	78.42 ± 2.26
Factor año de cosecha		
181Tp_CY06	93.91 ± 6.96	101.36 ± 6.75
181Tp_CY11	86.87 ± 3.94	95.47 ± 4.79
181Tp_CY12	77.34 ± 2.82	85.43 ± 2.90

Ca = 'Cochinera amarilla', Cb = 'Cochinera blanca', Cm = 'Cochinera morada', Ta = 'Tarragona amarilla', Tp = 'Tarragona parraleña', CY = San Cayetano, TL = Tlachichuca, ZOA = Zoapan.

4.4.2 Propiedades químicas

En el Cuadro 4.8 se observan cifras del análisis de varianza sobre las variables de propiedades químicas del almidón nativo de haba, del factor cultivar: almidón total, almidón resistente, almidón soluble, amilosa, amilopectina, y la relación amilosa/amilopectina.

Las cultivares analizados fueron 'Cochinera blanca' (Cb) colectas 22 y 160, 'Cochinera amarilla' (Ca) colecta 93, 'Cochinera morada' (Cm) colecta 146, 'Tarragona parraleña' (Ta)

colecta 181, y ‘Tarragona amarilla’ (Ta) colectas 281 y 288, que fueron cosechadas tanto en Tlachichuca 2007 como en San Cayetano 2011, tal como se ve en el arreglo experimental del Cuadro 3.1. En ésta investigación, el factor cultivar marcó diferencia estadística sobre la relación Amilosa/amilopectina ($pr < 0.05$), pero se obtuvo un mayor nivel de significancia de que el contenido de Amilosa, amilopectina (ambos $pr < 0.001$), la relación Amilosa/amilopectina ($pr < 0.001$), así como el almidón total ($pr < 0.01$), hayan sido influenciadas por la localidad. Lo anterior demuestra que dentro de las propiedades del almidón de haba, los factores ambientales, ejercen influencia en las propiedades de Amilosa, y amilopectina, así como en el almidón total.

Cuadro 4.8 Análisis de varianza de las propiedades químicas del almidón nativo de haba para el factor cultivar (cultivares 22Cb, 93Ca, 146Cm, 160Cb, 181Tp, 281Ta, 288Ta) en dos localidades (Tlachichuca 2007 y San Cayetano 2011).

Variable	Gl	Media	Coeficientes de variación	Cuadrados medios		
				Cultivar	Localidad-año	Error
Almidón total (%p.s.)	41	84.703	4.942	33.584	221.077 **	17.526
Almidón resistente (%p.s.)	41	5.289	21.111	3.237 *	0.457	1.247
Almidón soluble (%p.s.)	41	80.579	4.428	63.582 ***	59.595 *	12.732
Amilosa (%p.s.)	41	26.84	6.31	8.840	260.921 ***	3.028
Amilopectina (%p.s.)	41	73.336	2.373	8.840	260.921 ***	0.001
Amilosa/amilopectina	41	0.366	8.957	0.003 *	0.089 ***	0.001

*** $Pr < 0.001$, ** $Pr < 0.01$, * $Pr < 0.05$, %p.s. = porcentaje de peso seco. El arreglo de todos los cultivares canalizados se observan en el Cuadro 3.1. Las imágenes de los cultivares se observan en la Figura 1A, Anexos.

Esto va de acorde con lo que afirman Cameron *et al.* (2007), en almidón de arroz, donde varían las propiedades de almidón total y de amilosa bajo diferencias ambientales, especialmente en cuanto a temperaturas bajas en tiempos cercanos a la cosecha, estrés hídrico, y condiciones de riego o temporal.

Se aprecia con mayor detalle en las gráficas de las Figuras 4.12 A, B, y 4.13, en donde se representa la posición relativa de los promedios por variable en cada eje, y en conjunto, las variables de propiedades químicas, almidón total (A.T.), almidón resistente (A.R.), almidón soluble (A.S.), Amilosa (Am), amilopectina (Ap), y la relación amilosa/amilopectina (Am/Ap), para identificar visualmente y comprender las posiciones relativas de todos los cultivares en éste tema (las escalas se componen del porcentaje del valor máximo respectivo por variable, y los orígenes son mayores de 0 para facilitar la visualización), se muestran cifras con valores absolutos

de las medias máximas y mínimas por variable. Además se muestran letras de la Prueba Tukey ($\alpha=0.05$), para identificar puntos con diferencias estadísticas significativas.

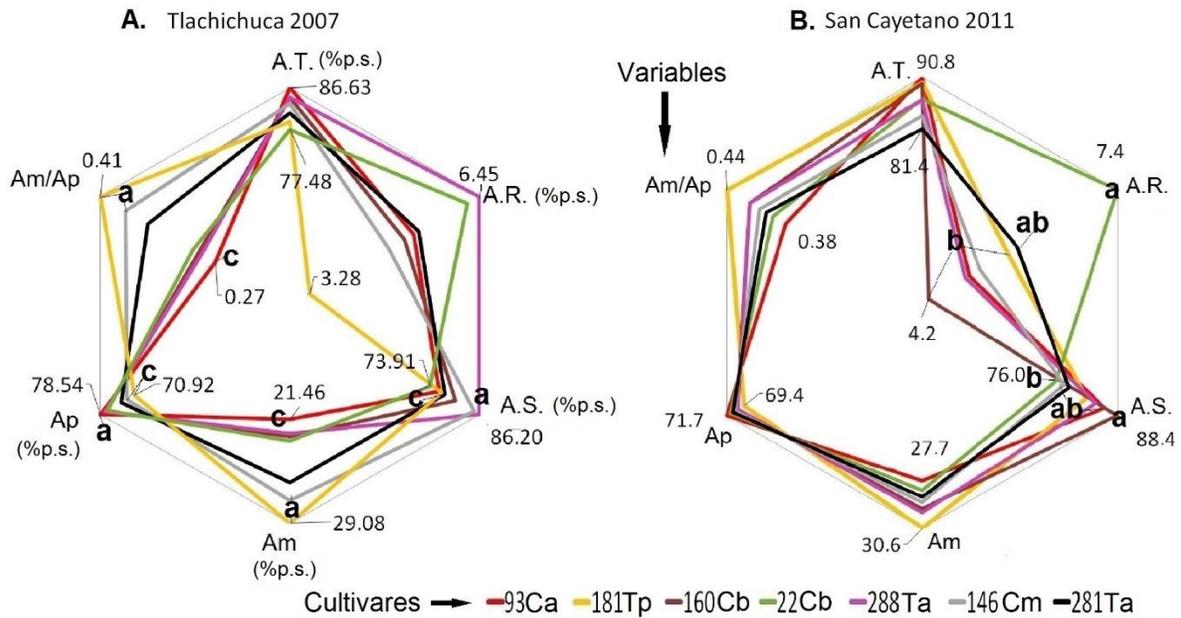


Figura 4.12 Posición relativa de medias de variables de propiedades químicas del almidón de haba, para las categorías de cultivares, cosechas de A. Tlachichuca 2007, y B. San Cayetano 2011, Puebla. %p.s. = porcentaje de peso seco. Letras indican diferencias Tukey $\alpha=0.05$, números indican promedios máximos y mínimos por variable. A.T = almidón total, A.R. = almidón resistente, A.S. = almidón soluble, Am = Amilosa, Ap = amilopectina, Am/Ap = Amilosa / amilopectina.

Entre las categorías de cultivar se calcularon diferencias estadísticas altamente significativas en el almidón soluble, y con menor significancia en el almidón resistente, y en la relación amilosa/amilopectina (Cuadro 4.8). Por otro lado, el factor localidad (Tlachichuca 2007, y San Cayetano 2011) resultó en un nivel más alto de significancia en las diferencias de medias de las propiedades de amilosa, amilopectina, y amilosa/amilopectina, y con menor significancia en el almidón total, y almidón soluble (Cuadro 4.8).

En la Figura 4.13 se aprecian las posiciones de los promedios por localidad (Tlachichuca 2007 y San Cayetano 2011) del conjunto de siete colectas de cinco cultivares analizados (22Cb, 93Ca, 146Cm, 160Cb, 181Tp, 281Ta, 288Ta).

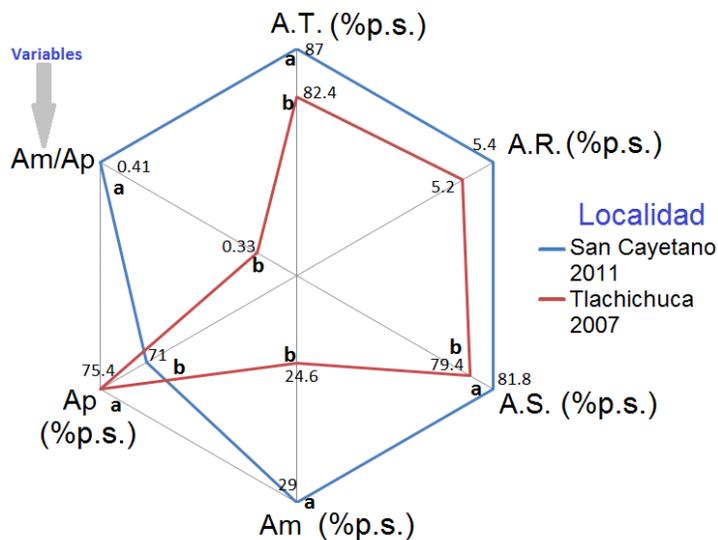


Figura 4. 13 Posición relativa de promedios de propiedades químicas del almidón de haba, comparación del almidón extraído de granos cosechados en Tlachichuca 2007, y San Cayetano 2011, Puebla. %p.s. = porcentaje de peso seco. Letras indican diferencias Tukey $\alpha=0.05$, números indican promedios máximos y mínimos por variable. A.T = almidón total, A.R. = almidón resistente, A.S. = almidón soluble, Am = Amilosa, Ap = amilopectina, Am/Ap = Amilosa / amilopectina.

En cuanto a diferencias ambientales entre estas localidades, cabe mencionar que en San Cayetano las temperaturas mínimas fueron inferiores que en Tlachichuca (sobre todo en el tiempo de cosecha, octubre-noviembre, de 1.6 a -1.5°C en S.Cay.11, y de 3.8 a 0.8°C en Tlach.07, ver Cuadro 3A, Anexos), y la precipitación total acumulada en tal temporada fue superior en San Cayetano 2011 (685 mm en S.Cayet., 529 mm en Tlach.07, ver Cuadro 3A, Anexos). Tales diferencias ambientales y los resultados obtenidos en este caso, como se ve en la Figura 4.13, coinciden también con lo que afirman Cameron et al. (2007) en almidón de arroz, y Ovando-Martínez et al. (2011) en almidón de frijol, donde temperaturas mínimas inferiores en tiempos cercanos a la cosecha pueden incrementar el contenido de Amilosa en algunos genotipos, y además, una mayor disponibilidad de humedad en el suelo incrementa el almidón total. De acuerdo a lo anterior, se observa que las medias de almidón total, y contenido de Amilosa, fueron superiores en San Cayetano 2011 con una probabilidad estadística altamente significativa ($pr < 0.001$), ver Cuadro 4.8, y Figura 4.13, en relación a los mismos cultivares en Tlachichuca 2007, los cuales por el contrario, presentaron un mayor promedio de amilopectina.

En cuanto al análisis del factor ambiente, se observa en el Cuadro 4.9, y Figura 4.14, los análisis de dos ambientes (Tlachichuca 2007, Zoapan 2007) sobre dos cultivares (89Ta y 181Tp)

como se observa en el arreglo del experimento en el cuadro 3.1. En este caso, los resultados coinciden con los obtenidos de amilosa, amilopectina, y amilosa/amilopectina del Cuadro 4.8, donde el factor localidad (Tlachichuca 2007 y San Cayetano 2011) influye con una probabilidad altamente significativa sobre éstas mismas propiedades, e incluso en este caso, disminuye el factor de variación por tiempo de cosecha, por tratarse del mismo año, 2007.

Cuadro 4.9 Análisis de varianza de las propiedades químicas del almidón nativo de haba para el factor ambiente, realizado en dos cultivares (89Ta, 181Tp), y dos ambientes (Zoapan y Tlachichuca 2007).

Variable	Gl	Media	Coeficientes de variación	Cuadrados medios			
				Cultivar	Ambiente	Amb. x cultivar	Error
Factor Ambiente							
Almidón Total (%p.s.)	11	81.448	9.385	2.674	1.037	97.347	58.428
Almidón resistente (%p.s.)	11	4.506	15.249	1.274	0.185	12.587 ***	0.472
Almidón soluble (%p.s.)	11	84.481	3.086	21.147	128.249 **	114.639 **	6.799
Amilosa (%p.s.)	11	26.937	3.166	25.346 ***	20.962 ***	4.738 *	0.727
Amilopectina (%p.s.)	11	73.063	1.167	25.346 ***	20.962 ***	4.738 *	0.727
Amilosa/Amilopectina	11	0.371	4.539	0.007 ***	0.002 **	0.008	0.001

*** Pr < 0.001, ** Pr < 0.01, * Pr < 0.05, %p.s. = porcentaje de peso seco. El arreglo de todas los cultivares analizados se observa en el Cuadro 3.1 Las imágenes de los cultivares se observan en la Figura 1 A, Anexos.

Como se observa en el Cuadro 1A (Anexos) las condiciones ambientales en Zoapan fueron más frías, sobre todo en tiempos cercanos a la cosecha (octubre-noviembre de 1.8 a 0.5°C en Zoapan, y de 3.8 a 0.8 en Tlachichuca), concordando nuevamente con lo que documentaron Cameron *et al.* (2007) en almidón de arroz, y Ovando-Martínez *et al.* (2011) en almidón de frijol, donde temperaturas mínimas más bajas en tiempos cercanos a la cosecha pueden aumentar la proporción de Amilosa en el almidón de algunos genotipos.

Se observa en la figuras 4.14, 4.15, y 4.16 la posición relativa de las medias de las propiedades químicas del almidón para el efecto del ambiente.

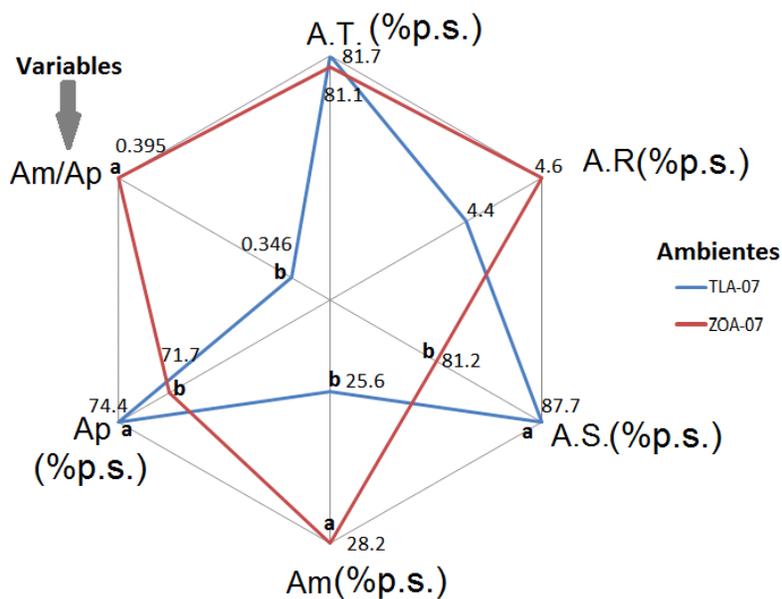


Figura 4.14 Posición relativa de promedios de propiedades químicas del almidón analizadas en los cultivares 89Ta y 181Tp, en dos ambientes (Tlachichuca 2007, TLA-07; Zoapan 2007, ZOA-07). %p.s. = porcentaje de peso seco. Letras indican diferencias Tukey $\alpha=0.05$, números indican promedios máximos y mínimos por variable. A.T = almidón total, A.R. = almidón resistente, A.S. = almidón soluble, Am = Amilosa, Ap = amilopectina, Am/Ap = Amilosa / amilopectina.

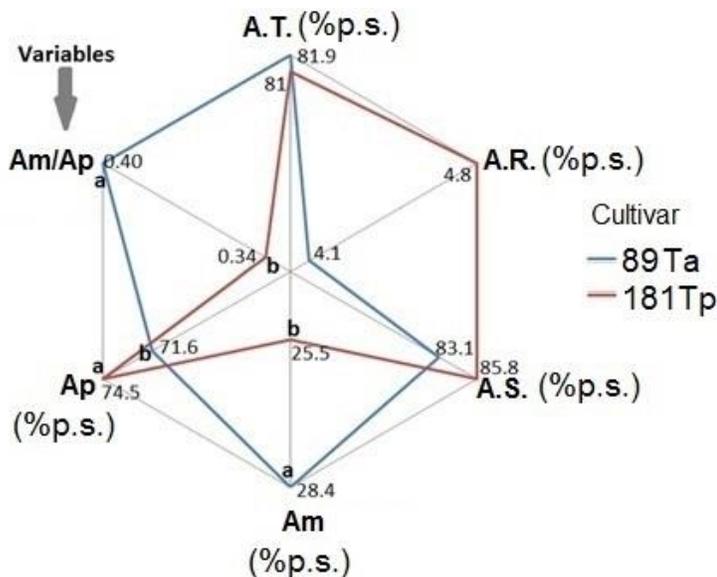


Figura 4.15 Posición relativa de promedios de propiedades químicas del almidón de haba evaluadas en dos cultivares (89Ta y 181Tp) bajo dos ambientes (Zoapan y Tlachichuca 2007), promedios por cultivares.

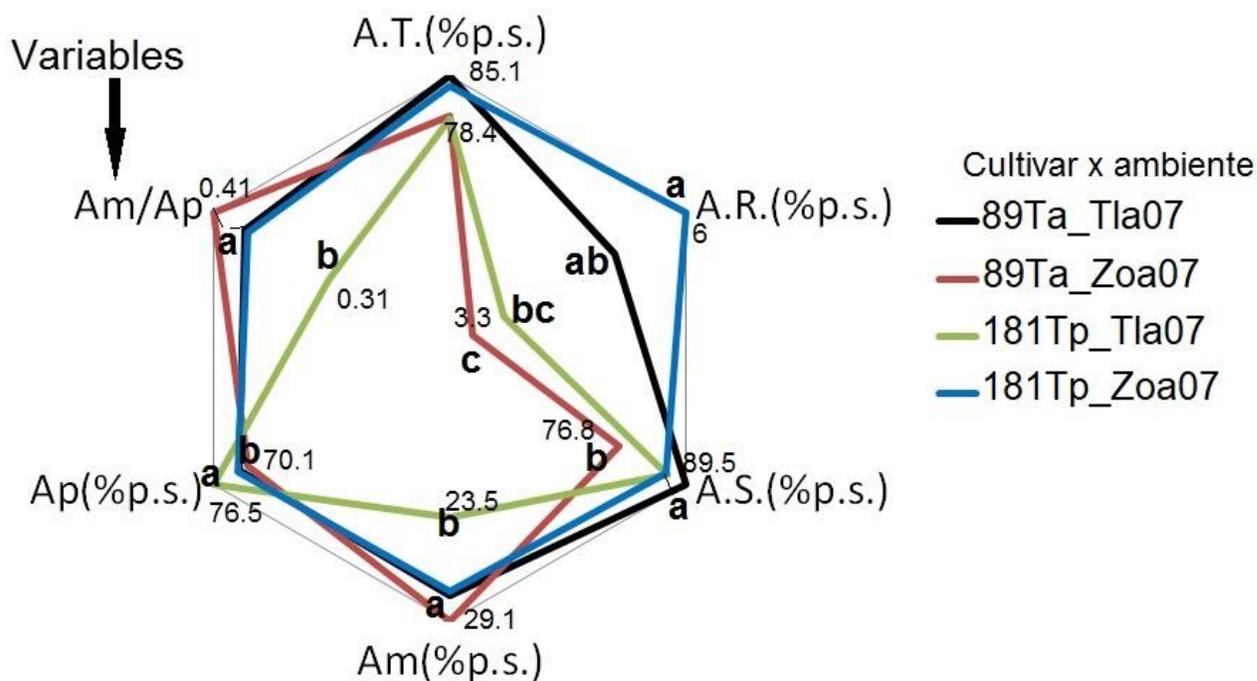


Figura 4.16 Posición relativa de medias de propiedades químicas del almidón de haba evaluadas en dos cultivares (89Ta, 181Tp), bajo dos ambientes (Zoapan, ZOA07; y Tlahichuca 2007, TLA07), promedios en cultivar x ambiente. %p.s. = porcentaje de peso seco. Letras indican diferencias Tukey $\alpha=0.05$, números indican promedios máximos y mínimos por variable. A.T = almidón total, A.R. = almidón resistente, A.S. = almidón soluble, Am = Amilosa, Ap = amilopectina, Am/Ap = Amilosa / amilopectina.

En cuanto al contenido de almidón total, se observa en este caso, los resultados son contrarios a lo obtenido en el factor cultivar, donde la diferencias entre las dos localidades (San Cayetano 2011 y Tlachichuca 2007) en el promedio de almidón total si tuvo una probabilidad significativa para el caso de los cultivares comparados (22Cb, 93Ca, 146Cm, 160Cb, 181Tp, 281Ta, 288Ta).

Con los resultados obtenidos hasta ahora, se detecta que tanto el grosor del grano como el contenido de AmilCabe agregar que en los análisis de correlación (ver Cuadro 4.18) se encontró una relación inversa entre el grosor del grano con el contenido de amilosa ($r = -0.458^*$), punto que añade particular interés sobre éstas variables, y aunque mediante ésta relación no se puede aseverar con exactitud sobre la dependencia entre el grosor del grano de haba con la composición Amilosa – amilopectina del almidón, tampoco se puede negar por completo este hecho, incluso variaciones del grosor del grano de haba de acuerdo al ambiente, coinciden en que el contenido de amilosa también es sensible a factores ambientales. Esto sugiere, la necesidad de tomar en cuenta

no solo el grosor de la parte media, sino el grosor de la parte más gruesa del grano, a causa de la forma particular del grano de haba. Esto contribuiría a aclarar si el grosor del grano refleja en cierto grado cuestiones internas del mismo, como la organización de las células del endospermo, hasta tal grado de tener cierta relación con las proporciones químicas de amilosa – amilopectina. Como ejemplo ilustrativo, se muestra la microimagen de un corte transversal del endospermo de un grano de haba maduro sin la testa, se observan células del endospermo contenidas en este tejido, y también se aprecian amiloplastos contenidos en las células (Figura 4.17), se observa que el tamaño de las células es más pequeño en dirección a la zona del hilio, y hay células más grandes en zonas medias del endospermo, y en dirección al extremo opuesto hacia el pericarpio.

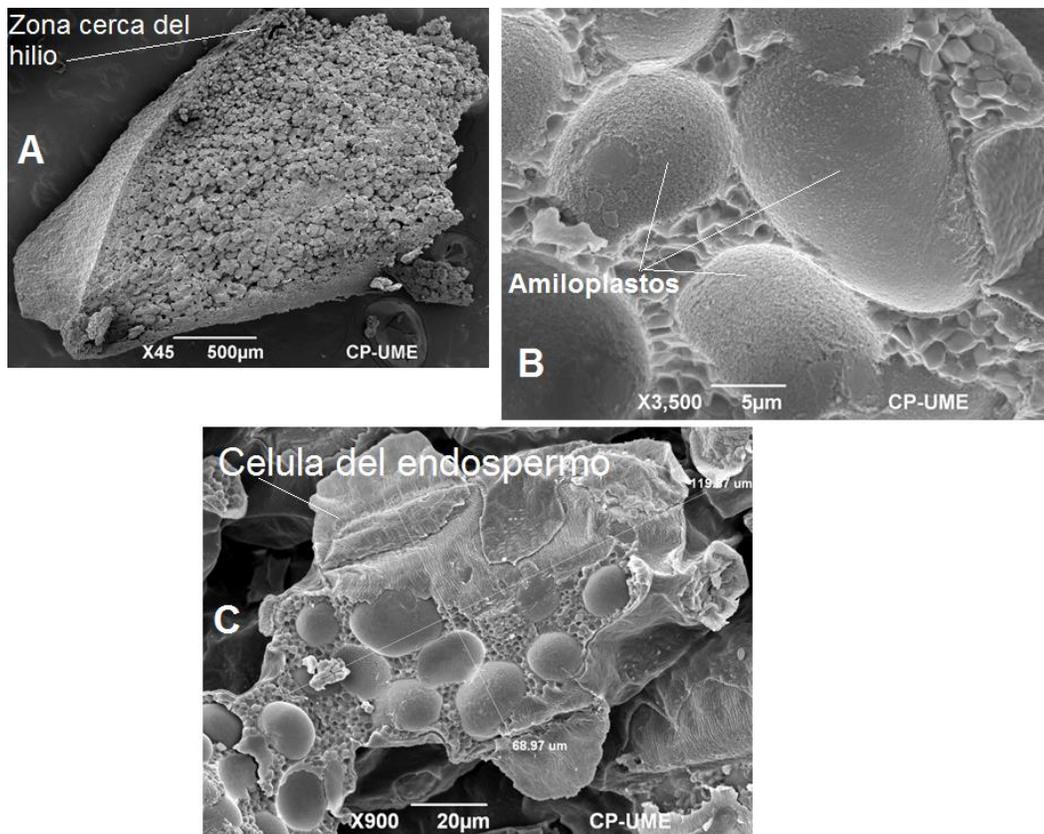


Figura 4.17 A. Microimagen por microscopía electrónica de barrido de un corte transversal de un grano maduro de haba sin testa. B. Imagen de amiloplastos, o gránulos de almidón contenidos en una célula del endospermo. C. Célula contenida en el tejido del endospermo. Colegio de Postgraduados, Campus Montecillos.

No se sabe si el tamaño de las células influye en el tamaño y número de amiloplastos (o gránulos de almidón), o si el tamaño de la célula, se relaciona con la composición de Amilosa –

amilopectina, aunque si se ha afirmado que los gránulos de tamaño grande se correlacionan positivamente con el contenido de amilosa aparente (Seetharaman et al. 2001). Por el momento no se descarta que cambios significativos en el grosor del grano de haba desencadenan también en parte ($r = - 0.458 * \text{grosor} - \text{amilosa}$) cambios en el contenido de Amilosa, con una probabilidad estadística significativa.

Sobre el almidón resistente no es claro cómo se relaciona dentro de la composición del almidón, pero si se relaciona con el tamaño de gránulo menor a 15 micras (Sajilinata *et al.* 2006). En los resultados estadísticos obtenidos en este caso, se aprecia que el almidón resistente es de las únicas propiedades que particularmente es influenciada por la interacción del cultivar-ambiente, es decir, los factores por separado presentan una diferencia con probabilidad estadística débil o insignificante, pero la interacción de ambos tienen una probabilidad con un alto nivel de significancia (Cuadro 4.9).

Para el análisis por año de cosecha (2006, 2011, 2012, en cultivar 181, arreglo del experimento en Cuadro 3.1), se aprecia que hubo diferencia estadística significativa principalmente en el almidón soluble (A.S), y almidón resistente (A.R.) ($pr < 0.01$), y además en el almidón total (A.T.), ($pr < 0.05$). En el contenido de Amilosa - amilopectina no se presentaron diferencias estadísticamente significativas (Cuadro 4.10 y Figura 4.17), ya que se trata de un mismo cultivar, bajo el mismo ambiente.

Cuadro 4.10 Análisis de varianza de las propiedades químicas del almidón nativo de haba para el factor año de cosecha, evaluado en un cultivar (181Tp) en tres años de cosecha (2006, 2011, y 2012), en San Cayetano, Puebla.

Variable	Factor año de cosecha				
	Gl	Media	Coeficientes de variación	Cuadrados medios	
				Año	Error
Almidón total (%p.s.)	8	94.086	5.382	194.661 *	25.642
Almidón resistente (%p.s.)	8	4.674	12.333	3.925 **	0.332
Almidón soluble (%p.s.)	8	78.367	1.590	34.573 **	1.551
Amilosa (%p.s.)	8	30.578	8.091	5.625	6.121
Amilopectina (%p.s.)	8	69.422	3.564	5.625	6.121
Amilosa/Amilopectina	8	0.442	11.851	0.003	0.003

*** $Pr < 0.001$, ** $Pr < 0.01$, * $Pr < 0.05$. El arreglo de todas los cultivares analizados se observan en el Cuadro 3.1. Las imágenes de los cultivares se observan en la Figura 1A, Anexos. %p.s.= porcentaje de peso seco.

Enfatizando en la influencia del año de cosecha sobre el porcentaje de almidón total, se detectó que el tiempo de almacenamiento de los granos no influyó de manera negativa en la pureza del almidón, o almidón total. Los granos de cosecha más distante (2006), tuvieron un porcentaje significativamente mayor de almidón total (100 %p.s.), en comparación con el de años más recientes, 95.5% en 2011, y 84.5% en 2012 (Figura 4.18; Cuadro 4.10). Tales diferencias en éste caso, para el cultivar ‘Tarragona parraleña’, colecta 181, coinciden con la disponibilidad de humedad en el suelo, ya que en la temporada de cultivo (marzo a noviembre), en el año 2006 hubo una precipitación acumulada de 694 mm, en el 2011 de 685 mm y en el 2012 de 510 mm (Cuadro 2A, Anexos).

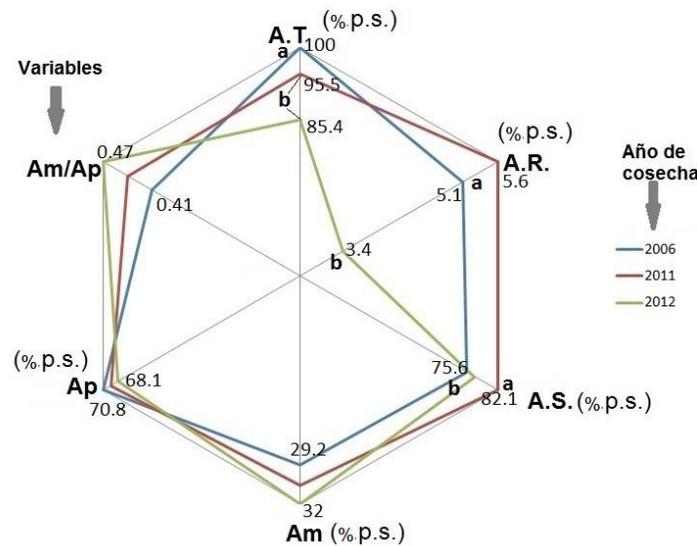


Figura 4. 18 Posición relativa de medias de propiedades químicas del almidón, evaluado en tres años (2006, 2011, 2012), en un cultivar (181Tp), mismo ambiente (San Cayetano, Puebla). %p.s. = porcentaje de peso seco. Letras indican diferencias Tukey $\alpha=0.05$, números indican promedios máximos y mínimos por variable. A.T = almidón total, A.R. = almidón resistente, A.S. = almidón soluble, Am = Amilosa, Ap = amilopectina, Am/Ap = Amilosa / amilopectina.

Esto concuerda también con lo que se ha documentado en el caso de almidones de arroz y frijol (Cameron *et al.* 2007; Ovando-Martínez *et al.* 2011), donde algunos genotipos, tienen mayor contenido de almidón total, cuando hay riego en comparación con temporal. Aunque en este caso solo se compararon condiciones de temporal, la cantidad de precipitación acumulada coincide proporcionalmente con el contenido de almidón total.

En cuanto al almidón resistente y soluble, se detectaron diferencias con porcentajes mayores en los granos del 2011 respecto a los del 2006 y 2012 aun tratándose del mismo cultivar (Figura

4.18). Estos cambios no fueron progresivos o regresivos con el tiempo de almacenaje del grano o año de cosecha.

4.4.3 Análisis proximal y pH

En los Cuadros 4A, 5A, 6A de Anexos se observan las cifras del análisis de varianza de los análisis proximales sobre el almidón nativo de haba. Las variables analizadas fueron: lípidos, proteína total (nitrógeno total), azúcares solubles, cenizas (%p.s.), humedad (%), y pH. En general, los resultados encontrados estuvieron por debajo de las cantidades máximas permitidas para ser considerado almidón de calidad en alimentos, a excepción del pH que resultó relativamente más alto (pH 7.5-8.5) respecto a al almidón comercial (pH 6) (Figuras 4.19 y 4.20). Los resultados de los contenidos de proteína total se muestran por separado del análisis. Se observan en las figuras 4.19 a 4.23 los resultados de las medias para todas las categorías utilizadas en los análisis.

En el cuadro 7A de Anexos se muestra los promedios del porcentajes de proteína total en todos los cultivares. Los porcentajes fueron bajos y estuvieron en un intervalo desde 0 hasta 2%, por lo cual se establece que solo se detectaron trazas de este componente. En el almidón aislado de haba los valores de pH resultaron alrededor de 8. Esto fue debido a que las extracciones se realizaron en medios alcalinos con pH de 9.5, y no se puede tener la certeza si un lavado más exhaustivo del almidón podría reducir el pH a 6.5 o valores cercanos, pues el pH de la harina tenía valores cercanos a 6.5. El lapso de tiempo entre la extracción y los análisis fue corto, y a las muestras se les adicionó un conservador (metabisulfito de sodio 0.01 p/v), se mantuvieron en frascos de vidrio ámbar herméticamente cerrados, y bajo refrigeración, lo que descartaría algún desarrollo de hongos que incrementara al pH.

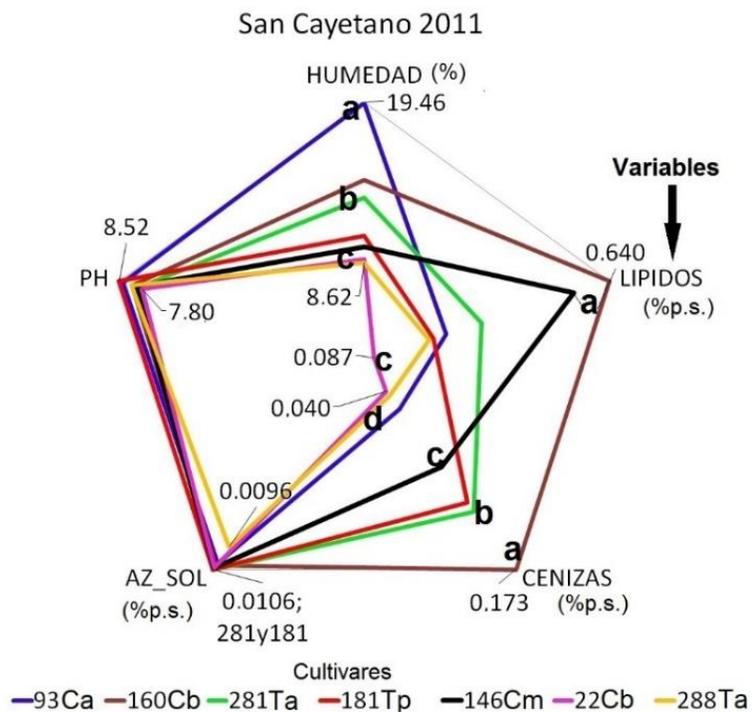


Figura 4.19 Posición relativa de medias de contenidos proximales, y pH del almidón. Evaluado en siete colectas de cinco cultivares, en San Cayetano, 2011. %p.s. = porcentaje de peso seco, letras indican diferencias Tukey $\alpha = 0.05$, números indican promedios máximos y mínimos por variable, AZ_SOL = azúcares solubles.

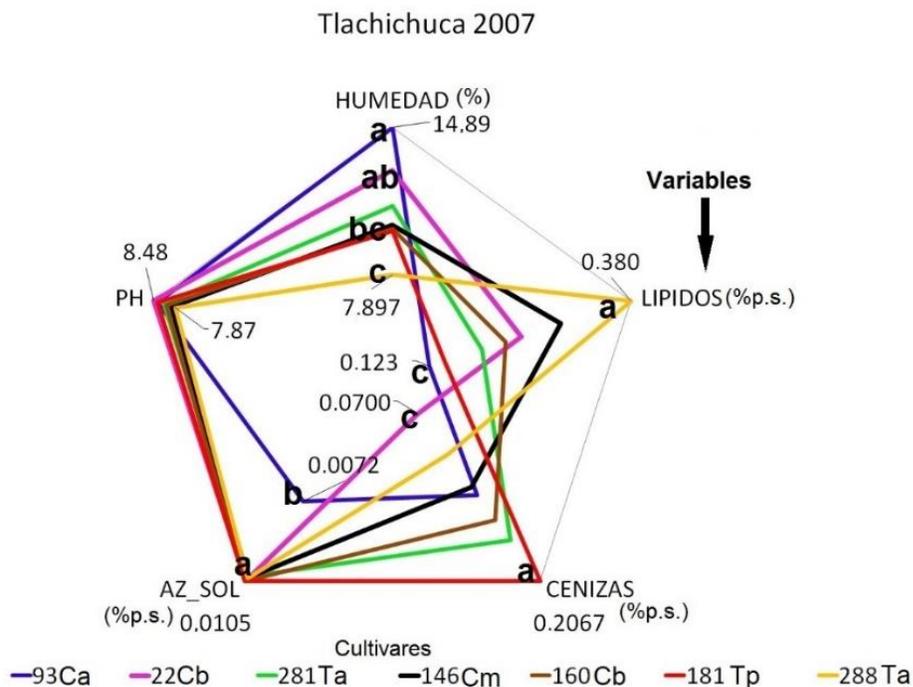


Figura 4.20 Posición relativa de medias de contenidos proximales y pH del almidón evaluados en siete colectas de cinco cultivares, en Tlachichuca 2007.

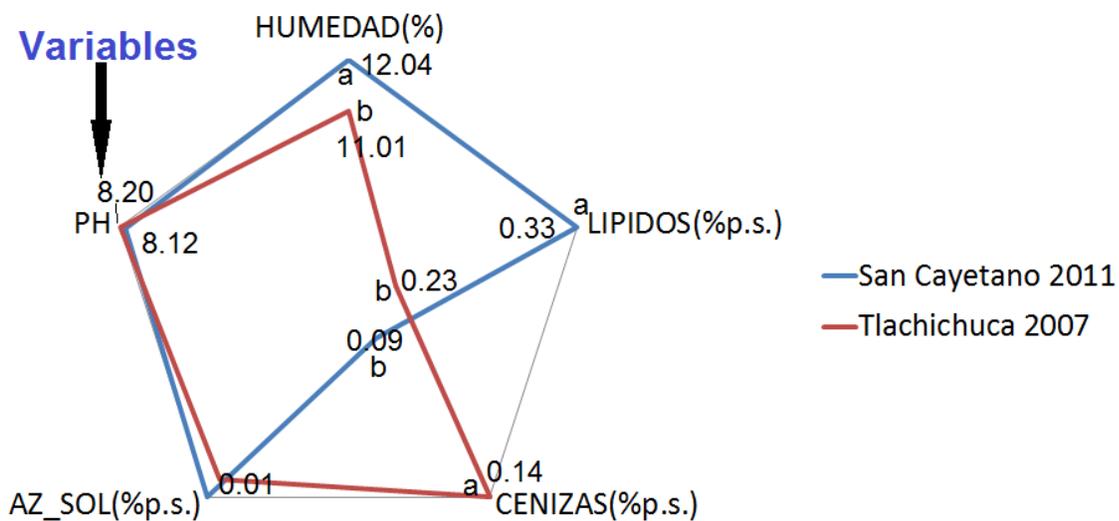


Figura 4.21 Posición relativa de medias de contenidos proximales y pH del almidón, comparación de medias de Tlachichuca 2007, y San Cayetano 2011. %p.s. = porcentaje de peso seco, letras indican diferencias Tukey $\alpha = 0.05$, números indican promedios máximos y mínimos por variable, AZ_SOL = azúcares solubles.

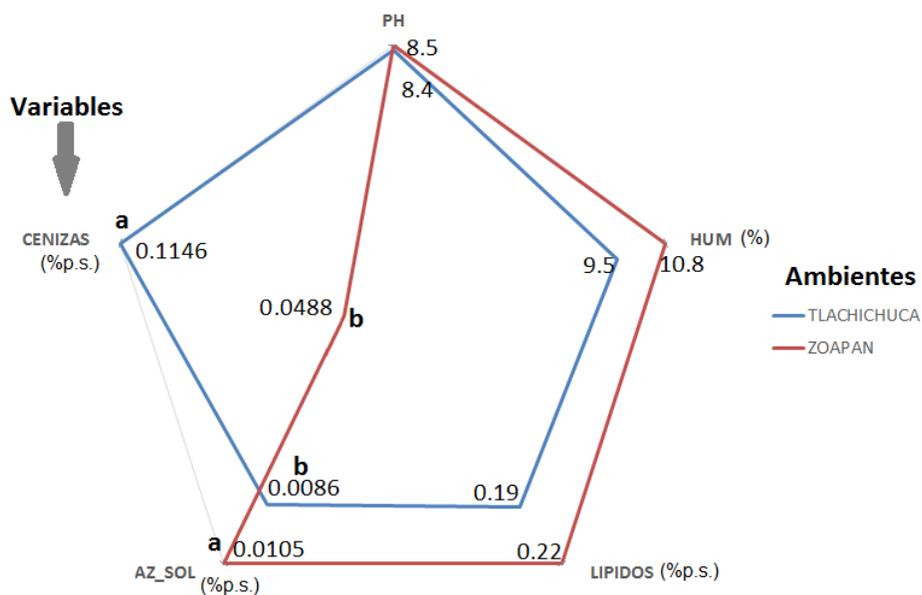


Figura 4.22 Posición relativa de medias de contenidos proximales y pH del almidón, comparación de dos cultivares (89Ta y 181Tp) en dos ambientes, Tlachichuca y Zoapan 2007.

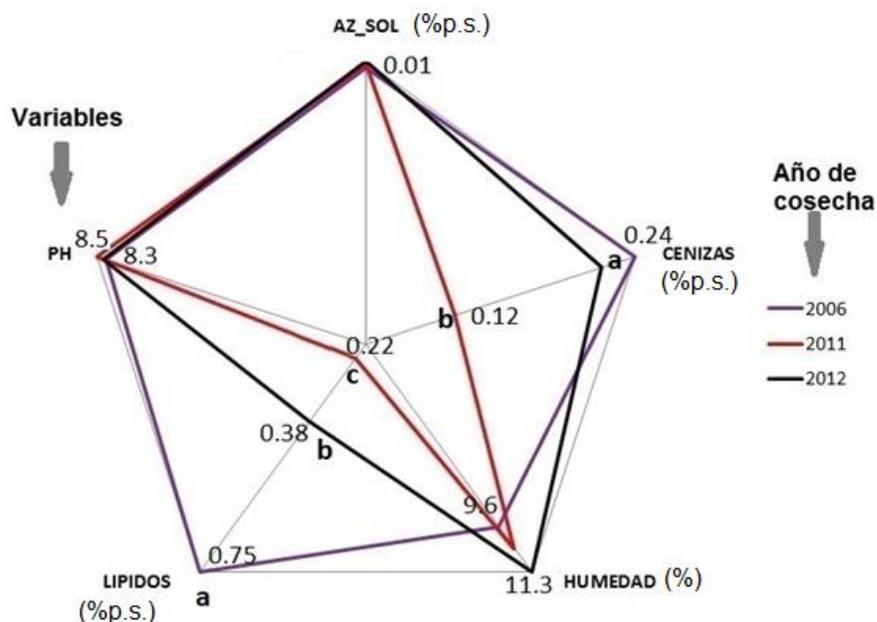


Figura 4.23 Posición relativa de medias del contenido proximal y pH del almidón, comparación de medias de tres años de cosecha (2006, 2011 y 2012), un solo ambiente (San Cayetano) y un cultivar (181Tp). AZ_SOL= azúcares solubles.

Para el contenido de cenizas, los promedios encontrados en la mayoría de cultivares, no excedieron el nivel permitido en almidones comerciales (0.12% b.s., Aristizábal y Sánchez 2007). Sin embargo, los rangos estuvieron entre 0.04% y 0.24% lo que aún se considera satisfactorio considerando otras referencias de almidón de leguminosas como de lenteja, de 0.03 a 0.25% (Sandhu y Lim 2008), y en haba de 0.45% (Sofi *et al.* 2013) (Figuras 4.19 a 4.23).

Reportes del contenido de azúcares solubles en almidón de haba no se han encontrado, pero los almidones preferiblemente no deben contenerlas (Aristizábal y Sánchez, 2007). Para este caso los promedios fueron cercanos a 0.01% para todos los cultivares.

Para el contenido de lípidos, los promedios hallados en todas los cultivares fueron de 0.2 a 0.75% lo cual se considera una cantidad satisfactoria, ya que la cantidad máxima permitida es 1% (Aristizábal y Sánchez, 2007).

En cuanto a humedad, los almidones comerciales como el del maíz, suelen tener una humedad de alrededor del 12 o 13%. En los almidones extraídos se obtuvieron promedios alrededor del 10-11%, aunque entre muestras, hubo un rango de variación un poco alto, ya que posterior a la extracción, las muestras se secaron a temperatura ambiente, y se hizo una prueba de secado en horno con una de las repeticiones (para no arriesgar muestras al daño), por lo que en este aspecto, faltaría estandarizar mejor la forma de secado del almidón.

4.4.4 Propiedades funcionales

Se aprecia en el cuadro 4.11 los resultados de las variables funcionales para el factor cultivar. Entre las categorías de cultivares se observa que si hubo diferencia significativa, pero la localidad no ejerció influencia alguna. Se observan las posiciones relativas de las medias para los distintos cultivares en la Figuras 4.24 y 4.25.

Cuadro 4.11 Análisis de varianza de las propiedades funcionales del almidón nativo de haba para el factor cultivar, realizado en seis colectas de cuatro cultivares en Tlachichuca 2007 (22Cb, 93Ca, 146Cm, 160Cb, 281, y 288), y siete colectas de cinco cultivares en San Cayetano 2011 (22Cb, 93Ca, 146Cm, 160Cb, 181Tp, 281Ta, 288Ta).

Variable	Factor cultivar					
	Gl	Media	Coefficientes de variación	Cuadrados medios		
				Cultivar	Localidad	Error
I.Solubilidad en agua (%)	38	14.615	8.855	6.010 **	0.070	1.675
I.Absorción de agua (g gel /g muestra)	38	11.898	6.799	3.921 ***	0.260	0.654
Poder de hinchamiento (g agua /g almidón)	38	13.922	8.770	4.642 *	1.695	1.491
Claridad 0 h (% de transmitancia)	38	1.109	7.696	0.130 ***	0.015	0.007
Claridad 24 h (%)	38	0.323	6.340	0.003 ***	8.816 E-05	4.214E-04
Claridad 48 h (%)	38	0.288	5.998	0.001 **	1.032 E-05	2.976E-04
Claridad 72h (%)	38	0.277	4.846	0.001 *	2.423E-04	1.803E-04

*** Pr < 0.001, ** Pr < 0.01, * Pr < 0.05. El arreglo de todas los cultivares analizados se observan en el Cuadro 3.1 Las imágenes de los cultivares se observan en la Figura 1A, Anexos.

Las cifras analizadas de los índices de solubilidad en agua (ISA), absorción de agua (IAA), y poder de hinchamiento (P_HIN), fueron las obtenidas a 80 ° C, temperatura en la cual se estabilizaron los valores, y se realizaron en seis colectas de cuatro cultivares en Tlachichuca 2007 (22Cb, 93Ca, 146Cm, 160Cb, 281Ta, 288Ta) y siete colectas de cinco cultivares de San Cayetano

(22Cb, 93Ca, 146Cm, 160Cb, 181Tp, 281Ta, 288Ta), faltando de analizar el cultivar 181Tp de Tlachichuca, ya que se terminó el almidón extraído.

Para los índices IAA, P_Hin, ISA, los resultados pudieron estar influenciados por el pH alto en el almidón (pues los valores de pH después de las extracciones fueron alrededor de 8 cuando normalmente los almidones comerciales deben poseer un pH cercano a 6), esto puede influir en la capacidad del almidón para absorber y retener agua (Leach 1959).

En almidón de frijol se han documentado índices de solubilidad de 8.3% (Salinas-Moreno *et al.* 2003). En almidón de maíz duro (que suele contener más amilosa que un maíz suave), se ha encontrado que el índice de solubilidad en agua (ISA) a 80 °C es de 4 (Salinas-Moreno *et al.* 2003). En almidón nativo de jícama el índice de absorción de agua (IAA) a 8 0°C es de 8.4, y el índice de solubilidad en agua (ISA) a 80 °C es de 1.2. En yuca el índice de absorción de agua (IAA) a 80 °C es de 12.9, y un índice de solubilidad (ISA) a 80 °C de 1.7 (Martínez-Bustos *et al.* 2005). En maíz se encontraron índices de IAA, y P_HIN en maíz mayores a 10, e índices en canmote, medidos a 80 °C, son cercanos a 20 tanto en IAA como PHIN (Hernández-Medina *et al.* 2008). Los valores obtenidos en éste caso en poder de hinchamiento de almidón de haba son inferiores comparados con el poder de hinchamiento a 80 °C en almidón de chícharo (18.8 – 20.8%), leteja (22.2 – 23.7%), y garbanzo (19.1 – 23.1) (Chung *et al.* 2008), (Figura 4.25 y 4.25).

En cuanto a resultados de claridad, se considera que el almidón nativo de haba produce pastas turbias, o carentes de claridad esto a causa de su alto contenido de Amilosa, e incluso del contenido de almidón resistente, y heterogeneidad del tamaño de sus gránulos. Esto indica que se producen pastas que confieren mayor espesor pero casi no gelifican. Esto puede ser deseable para fines específicos, como en alimentos poco transparentes donde es deseable mayor espesor. Como referencia, el valor de la claridad en pastas de almidón varía generalmente entre 12.5 y 95% (Aristizábal y Sánchez 2007). Sin embargo, se ha hallado que en algunas leguminosas, el porcentaje de transmitancia entre 24 h a 120 h varía entre 0.98 y 0.27% en frijol negro, entre 0.91 y 0.35% en frijol blanco (Hussain *et al.* 2014); entre 1.00 y 0.50% en alubias (Wani *et al.* 2010), entre 6.93 y 0.505% en habas (Sofi *et al.* 2013), lo cual es comparable en parte con los resultados de las Figuras 4.24 a 4.27 (donde se comparan con los valores de porcentajes de transmitancia de 0 a 72 h , en CLA 0, 24, 48, y 72).

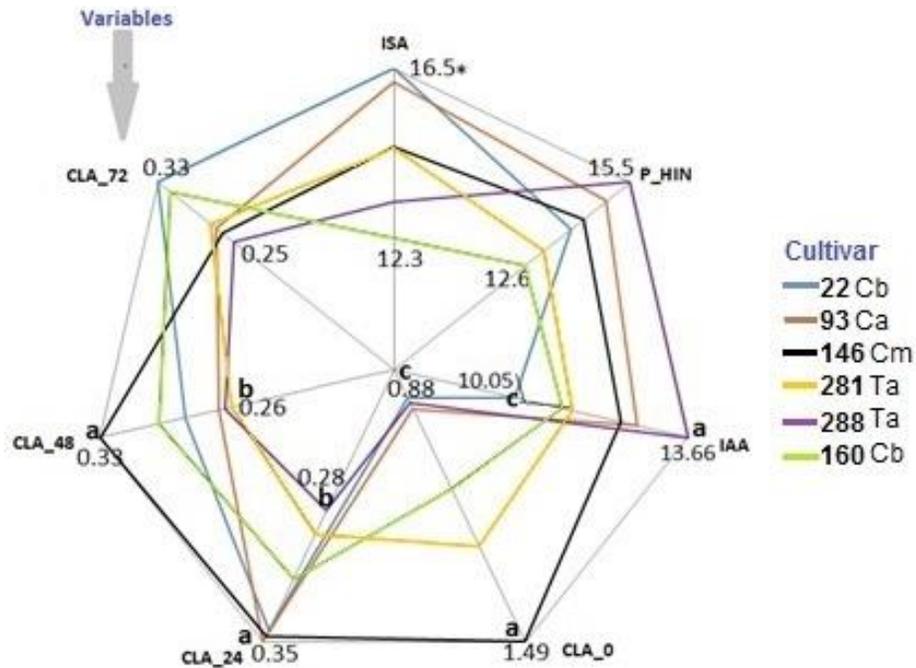


Figura 4. 24 Posición relativa de promedios de propiedades funcionales del almidón nativo de haba, en función de cultivares (22Cb, 93Cb, 146Cm, 160Cb, 281Ta, 288Ta) cultivados en Tlachichuca 2007. ISA = Índice de solubilidad en agua, P_HIN = poder de hinchamiento, IAA = Índice de absorción de agua, CLA_0, 24, 48, 72 = % de transmitancia. Números indican promedios máximos y mínimos por variable, letras indican diferencias Tukey $\alpha = 0.05$.

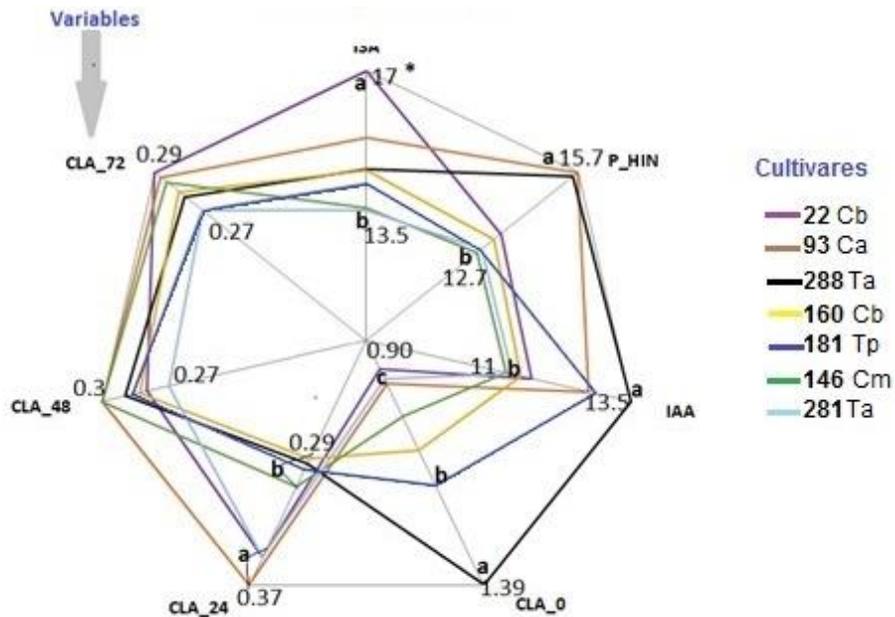


Figura 4. 25 Posición relativa de medias de propiedades funcionales del almidón nativo de haba, categorías de cultivares (22Cb, 93Ca, 146Cm, 160Cb, 181Tp, 281Ta, 288Ta), cultivados en localidad San Cayetano 2011.

Se observa en el cuadro 4.12 que el factor ambiente influyó significativamente sobre todo en la claridad a 0 y 24 horas, en las 72 horas ya no se presentaron diferencias, tal como se ve en la Figura 4.27.

Cuadro 4.12 Análisis de varianza de los porcentajes de transmitancia de luz del almidón nativo de haba a diferentes horas de reposo para el factor ambiente, se analizaron dos cultivares (89Ta, y 181Tp) en dos ambientes (Tlachichuca y Zoapan 2007).

Variable	Gl	Media	Coeficientes de variación	Cuadrados medios			
				Ambiente X			
				Cultivar	Ambiente	Cultivar	Error
Clar. 0h (%)	11	1.286	6.617	0.180 **	0.103 **	0.079 *	0.007
Clar. 24h (%)	11	0.307	3.881	0	0.002 **	3.00E-04	1.42E-04
Clar. 48h (%)	11	0.283	2.696	3.33E-05	0.001 *	0.002 ***	5.83E-05
Clar. 72h (%)	11	0.273	2.854	0.001 **	1.87E-04	1.53E-04	6.06E-05

*** Pr < 0.001, ** Pr < 0.01, * Pr < 0.05. Clar. 0h, 24h, 48h, y 72h = Claridad o transmitancia a 0, 24, 48, y 72 horas de reposo.

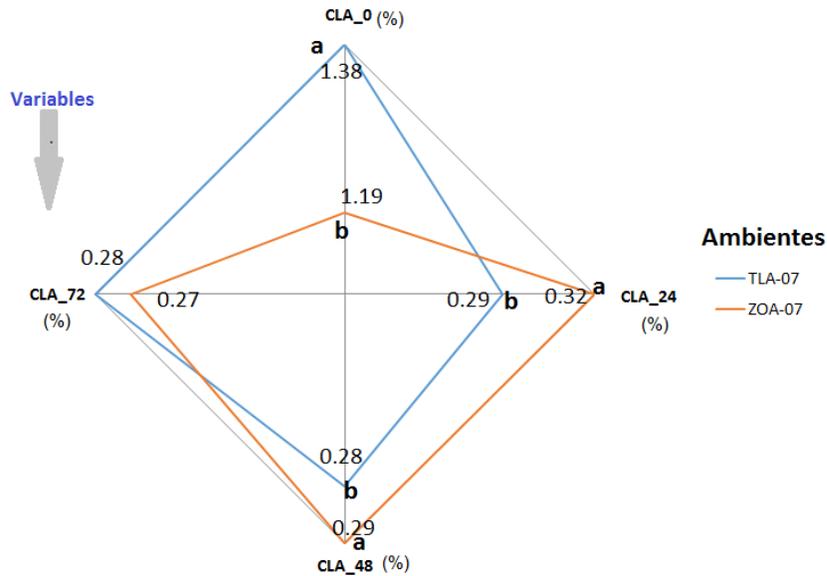


Figura 4. 26 Posición relativa de promedios de claridad del almidón nativo de haba, a a diferentes horas de reposo, en función de dos ambientes, Zoapan 2007, y Tlachichuca 2007, se analizaron dos cultivares (89Ta y 181Tp). CLA_0, CLA_24, CLA_48, CLA_72 = porcentaje de transmitancia a 0 horas, 24 horas, 48 horas, y 72 horas. Letras indican diferencias Tukey $\alpha = 0.05$.

En cuanto a diferencias para el año de cosecha (Figura 4.27), sólo se presentaron diferencias en la claridad del almidón nativo de haba en 0 h y 72 h, donde los granos del 2012 presentaron una mayor claridad ($p < 0.05$), ver Cuadro 4.13.

Cuadro 4.13 Análisis de varianza de la claridad del almidón nativo de haba a diferentes horas de reposo para el factor año de cosecha, analizado en un cultivar (181Tp), en la localidad de San Cayetano, en tres años distintos (2006, 2011, 2012).

Variable	Año de cosecha				
	Gl	Media	Coeficientes de variación	Cuadrados medios	
				Año	Error
Clar. 0 h	8	1.369	19.070	0.372 *	0.068
Clar. 24 h	8	0.311	6.684	0.002	4.315E-04
Clar. 48 h	8	0.286	3.465	2.465E-04	9.814E-05
Clar. 72 h	8	0.277	4.629	0.001 *	1.649E-04

*** $Pr < 0.001$, ** $Pr < 0.01$, * $Pr < 0.05$. Clar. 0h, 24h, 48h, y 72h = Claridad o transmitancia a 0, 24, 48 , y 72 horas de reposo.

En general se observó que la claridad medida a temperatura ambiente inmediatamente al obtener la pasta (0 h), tuvo más diferencia en el porcentaje de transmitancia (Figuras 4.24 a 4.27), pero a partir de las 24 horas, las variaciones de transmitancia disminuyeron, y posteriormente los cambios no tuvieron diferencias con significancia estadística hasta las 72 horas. Éste fenómeno se debe a que las cadenas poliméricas de un almidón con mayor contenido de amilosa se asocian entre si y tienden a formar una estructura ordenada que causa turbidez, y reduce la transmitancia de luz (Lovedeep *et al.* 2002). Un punto relevante sobre la claridad 0 horas, es que presentó una correlación significativa con el contenido de almidón resistente ($r = -0.689$ **), como se observa en el cuadro 12A de Anexos, esto tiene coherencia ya que se ha comprobado que el almidón resistente se relaciona con gránulos pequeños menores a $15 \mu\text{m}$ (Sajilinata *et al.* 2007), que al mismo tiempo requieren más energía para gelatinizar (Narváez-González *et al.* 2007). Por lo anterior, en éste trabajo se pudo encontrar que almidones que presentan una mayor proporción de

almidón resistente, resultan en una menor transmitancia de luz, o una mayor turbidez al inicio de la formación de pasta (0 h), con una probabilidad estadística significativa.

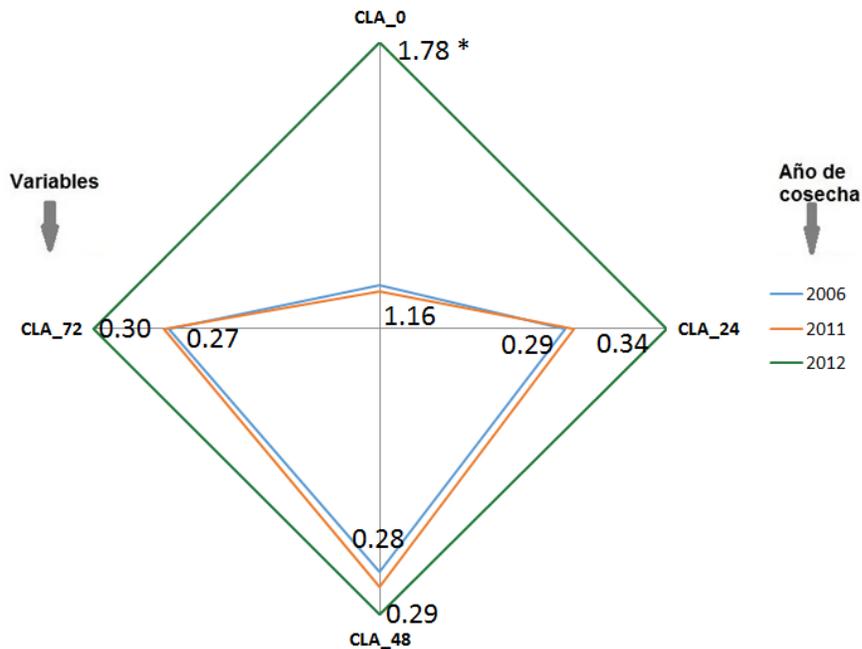


Figura 4.27 Posición relativa de promedios de claridad del almidón nativo de haba en el cultivar 181Tp, en la misma localidad (San Cayetano) en tres años de cosecha (2006, 2011, 2012). CLA_0, CLA_24, CLA_48, CLA_72 = porcentaje de transmitancia a 0 horas, 24 horas, 48 horas, y 72 horas. Letras indican diferencias Tukey $\alpha = 0.05$.

4.4.5 Propiedades físicas

4.4.5.1 Color del almidón nativo de haba

En el presente trabajo el almidón extraído presentó una alta blancura de un grado visualmente satisfactorio, aun cuando la harina a partir de las que se extrajo el almidón, presentaba una pigmentación notoriamente amarilla por presencia de lípidos, proteínas, carotenos, compuestos fenólicos, entre otros. Se presentó un índice de blancura IB para todas los cultivares promedio de 92.7% y un ΔE o índice de diferencia total de color de 3.1%. La blancura resultó en este caso con un promedio superior a lo publicado por Lee *et al.* (2007) donde se obtiene un índice L^* promedio en almidón de haba de 87.39 en comparación del promedio obtenido en éste trabajo de $L^* = 94.12$.

En el Cuadro 4.14 se observa que hubo diferencias en tanto en el índice IB, como en el ΔE , entre cultivares, y entre localidades. En la Figura 4.28 se observa que el almidón del cultivar

‘Cochinera blanca’ (Cb) colecta 22 de Tlachichuca 2007 presentó el mayor índice de blancura, y respecto a la diferencia total del color tuvo un ΔE de 2.61.

Cuadro 4.14 Análisis de varianza de los índices de color del almidón nativo de haba para el factor cultivar, en siete colectas de cinco cultivares (22cb, 93Ca, 146Cm, 160Cb, 181Tp, 281Ta, 288Ta) en Tlachichuca 2007 y San Cayetano 2011.

Variable	Gl	Media	Coeficientes de variación	Cuadrados medios		
				Cultivar	Localidad	Error
IB (%)	41	92.748	0.704	1.631 **	2.973 *	0.426
ΔE (%)	41	3.139	22.395	2.992 ***	2.245 *	0.494

*** Pr < 0.001, ** Pr < 0.01, * Pr < 0.05. El arreglo de todas los cultivares analizados se observan en el Cuadro 3.1. Las imágenes de los cultivares se observan en la Figura 1A, Anexos. IB = Índice de blancura, ΔE = Índice de variación total de color.

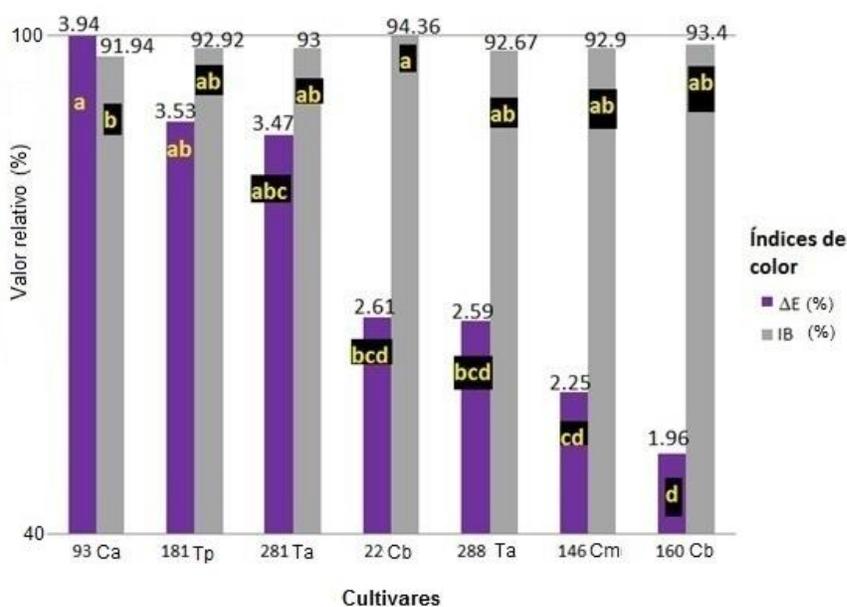


Figura 4.28 Promedios de índices de color del almidón nativo de haba en posiciones relativas entre cultivares de la localidad de Tlachichuca 2007. Letras indican diferencias Tukey $\alpha = 0.05$, ΔE = índice de diferencia total de color, IB = índice de blancura.

En la figura 4.29 se observa que en San Cayetano el cultivar ‘Cochinera blanca’ colecta 160 presentó el mayor índice de blancura (IB = 93.68%), y una variación total de color entre muestras baja ($\Delta E = 2.05\%$).

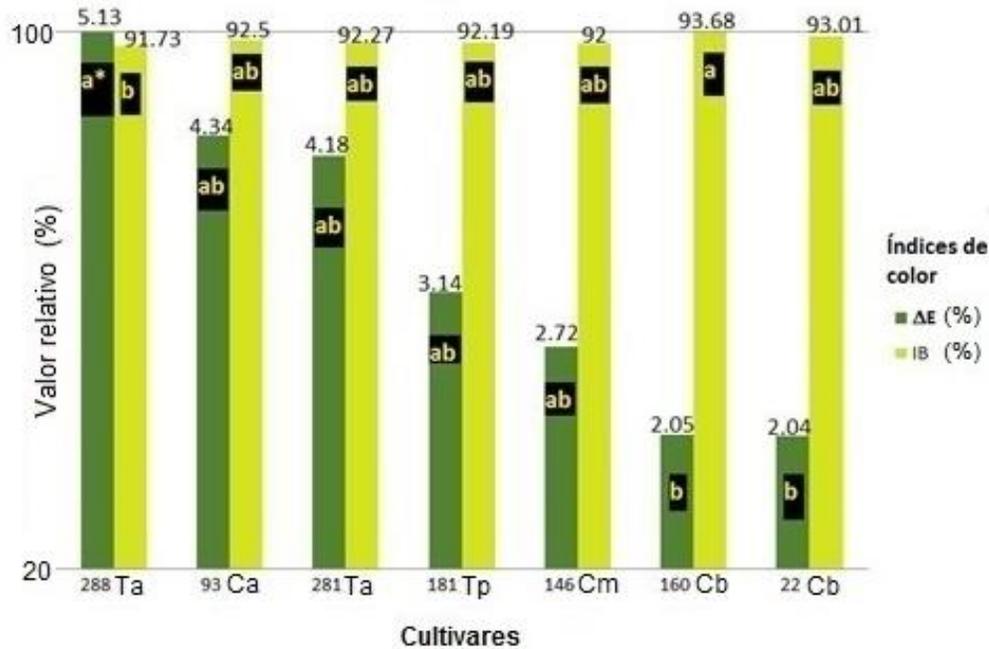


Figura 4.29 Promedios de índices de color en posición relativa entre cultivares, índice de blancura (IB), e índice de diferencia total de color (ΔE) en el almidón nativo de haba, localidad de San Cayetano 2011. *Letras indican diferencias Tukey $\alpha = 0.05$.

En la Figura 4.30 se observa que el color del almidón proveniente de los granos de Tlachichuca 2007 tuvo un índice de blancura (IB) significativamente superior al de los granos de San Cayetano 2011, y el índice de variación total de color (ΔE) fue significativamente inferior también en Tlachichuca 2007.

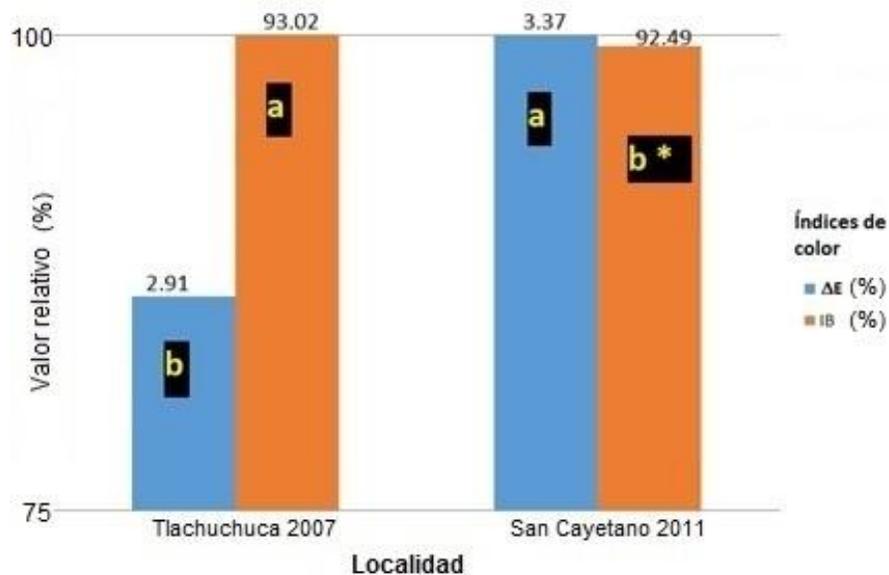


Figura 4.30 Promedios en posiciones relativas de los índices de color del almidón nativo de haba para dos localidades, en ambas se cosecharon siete colectas de cinco cultivares (22Cb,

93Ca, 146Cm, 160Cb, 181Tp, 281Ta, 288Ta). *Letras indican diferencias Tukey $\alpha = 0.05$. IB = índice de blancura, ΔE = variación total de color.

Para el factor ambiente sobre el color del almidón se observa en el cuadro 4.15 y Figura 4.31 que solo hubo diferencias en la variación total de color ΔE , y fue significativamente mayor en Zoapan.

Cuadro 4.15 Análisis de varianza de los índices de color del almidón nativo de haba para el factor ambiente realizado en dos cultivares (181Tp y 89Ta) y dos ambientes (Zoapan y Tlachichuca 2007).

Variable	Ambiente						
	Gl	Media	Coeficientes de variación	Cuadrados medios			
				Cultivar	Ambiente	Ambiente X Colecta	Error
IB (%)	11	92.211	0.769	1.771	1.802	0.042	0.503
ΔE (%)	11	4.005	13.469	0.368	2.117 *	0.183	0.291

*** Pr < 0.001, ** Pr < 0.01, * Pr < 0.05, IB = Índice de blancura, ΔE = Í. de diferencia total de color. El arreglo de todas los cultivares analizadas se observan en el Cuadro 3.1. Las imágenes de los cultivares se observan en la Figura 1A, Anexos.

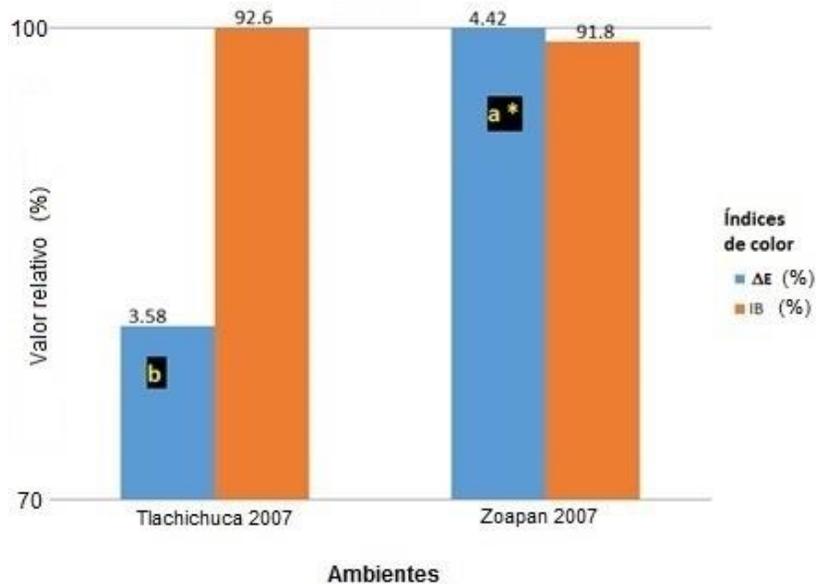


Figura 4. 31 Promedios de los índices de color del almidón nativo de haba, índice de blancura (IB), e índice de diferencia total de color (ΔE), para dos ambientes, evaluado en dos cultivares (89Ta y 181Tp). * Letras distintas indican diferencias Tukey $\alpha = 0.05$.

En el Cuadro 4.16 y Figura 4.32 se observa que no hubo diferencias estadísticas significativas en los índices de color del almidón extraído en el cultivar ‘Tarragona parraleña’ colecta 181 proveniente de tres años distintos de cosecha.

Cuadro 4.16 Análisis de varianza de los índices de color del almidón nativo de haba para el factor año de cosecha, analizado sobre el cultivar ‘Tarragona Parraleña’ colecta 181.

Variable	Año				
	Gl	Media	Coeficientes de variación	Cuadrados de la media	
				Año	Error
IB (%)	8	92.553	20.488	0.290	0.204
ΔE (%)	8	3.398	17.548	0.156	0.355

*** Pr < 0.001, ** Pr < 0.01, * Pr < 0.05, IB = Índice de blancura, ΔE = Índice de diferencia total de color. El arreglo de todas los cultivares analizados se observan en el cuadro 3.1. Las imágenes de los cultivares se observan en la figura 1A, Anexos.

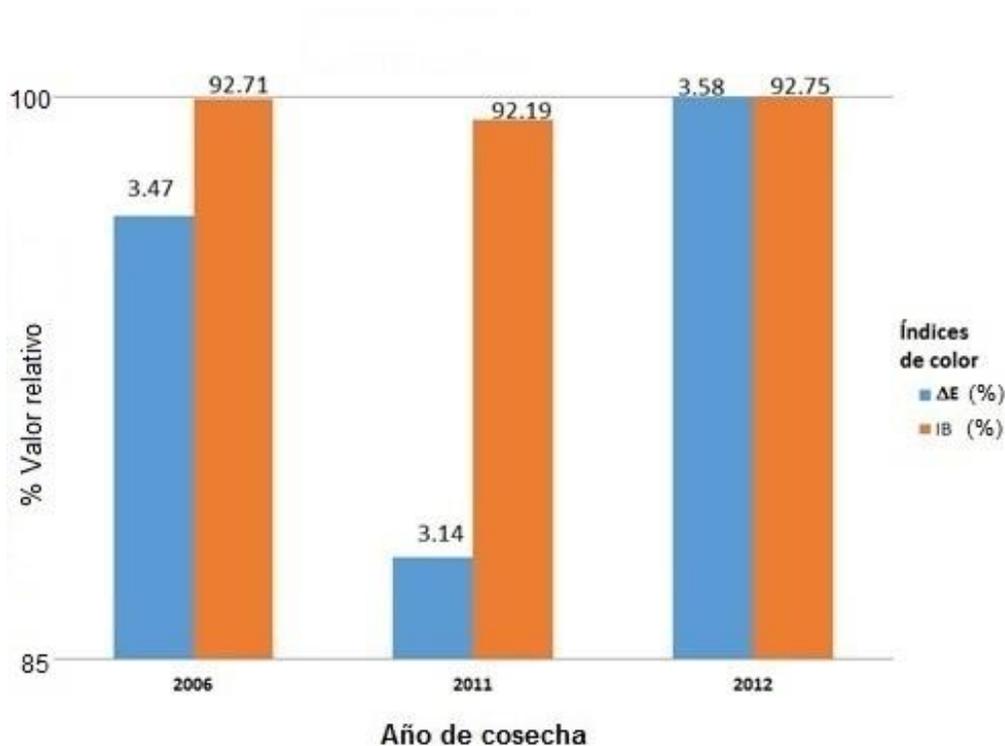


Figura 4.32 Promedios del índice de color del almidón nativo de haba de granos del cultivar ‘Tarragona parraleña’ colecta 181 en tres años distintos de cosecha (San Cayetano). IB = Índice de blancura, ΔE = Índice de diferencia total de color.

4.4.5.2 Morfología de los gránulos nativos de almidón de haba

Las mediciones del tamaño de los gránulos de almidón nativo de haba tuvieron un intervalo relativamente amplio, cuyas formas en el plano bidimensional fueron predominantemente ovaladas. Se llegaron a apreciar pocas formas más irregulares en tamaños mayores, posiblemente por tratarse de gránulos compuestos (con más de un hilio alrededor del cual se forman los anillos concéntricos de sus componentes); en tamaños más pequeños sus formas se observaron esféricas (figura 4.33).

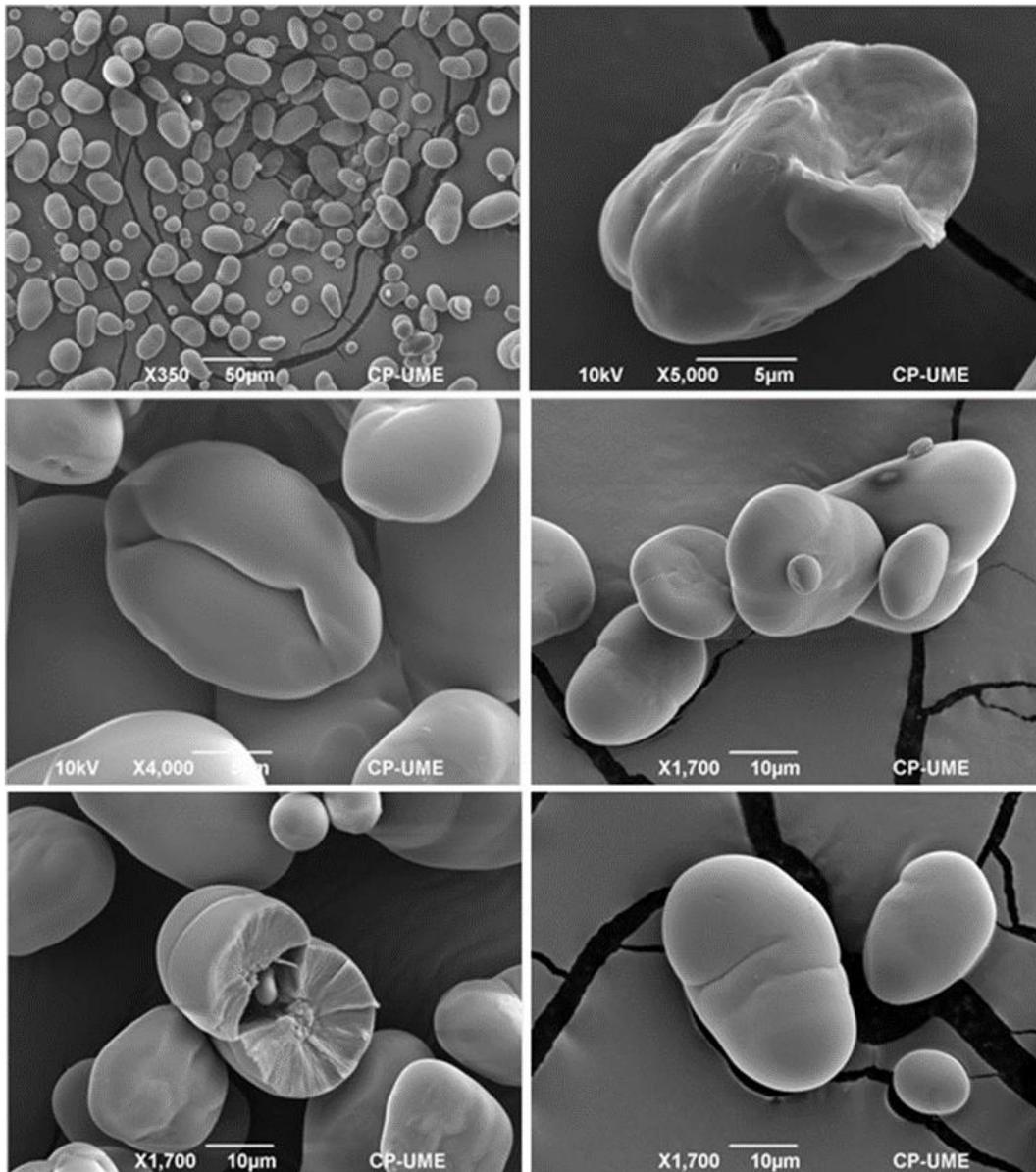


Figura 4.33 Microfotografías de gránulos de almidón nativo de haba (Colegio de Postgraduados, Montecillos).

Cuadro 4.17 Prueba de normalidad para las frecuencias del tamaño de gránulos nativos de haba.

	Kolgomorov-Smirnov ^a		
	Estadístico	Gl	Sig.
Diámetro mayor o diámetro	0.091	684	0.000
Área aproximada	0.120	684	0.000

a = Corrección de la significación de Lilliefors. Sig. = probabilidad estimada.

La probabilidad estimada (Sig.) para el conjunto de valores registrados no logró ser mayor que la estadística de prueba para ambos casos, por lo cual las frecuencias del diámetro, y de la superficie aproximada de los gránulos nativos del almidón de haba no se ajustan a una distribución normal. Al respecto se muestra en la Figura 4.34 y 4.35 los histogramas de frecuencias de tamaños registrados tanto en diámetro o diámetro mayor, como en área aproximada.

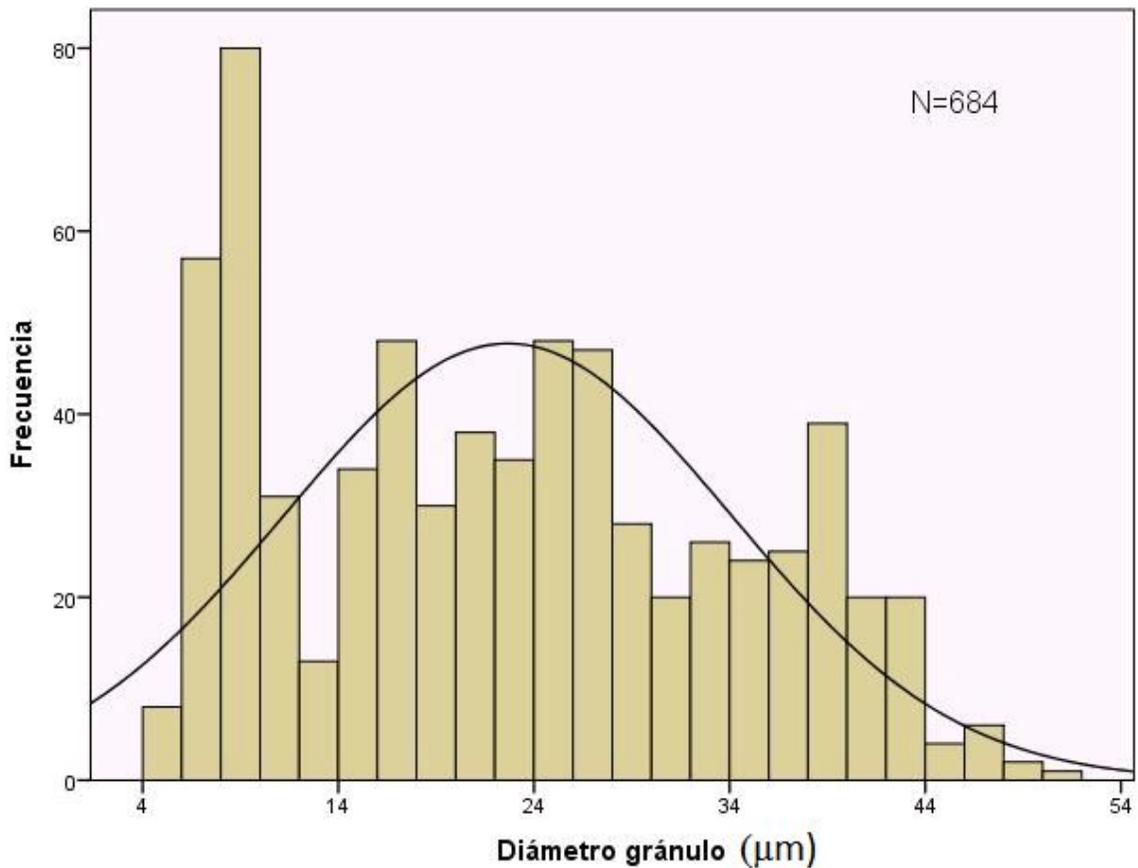


Figura 4.34 Histograma con curva de normalidad de frecuencias de tamaños del diámetro mayor de los gránulos de almidón de haba medidos en el microscopio electrónico.

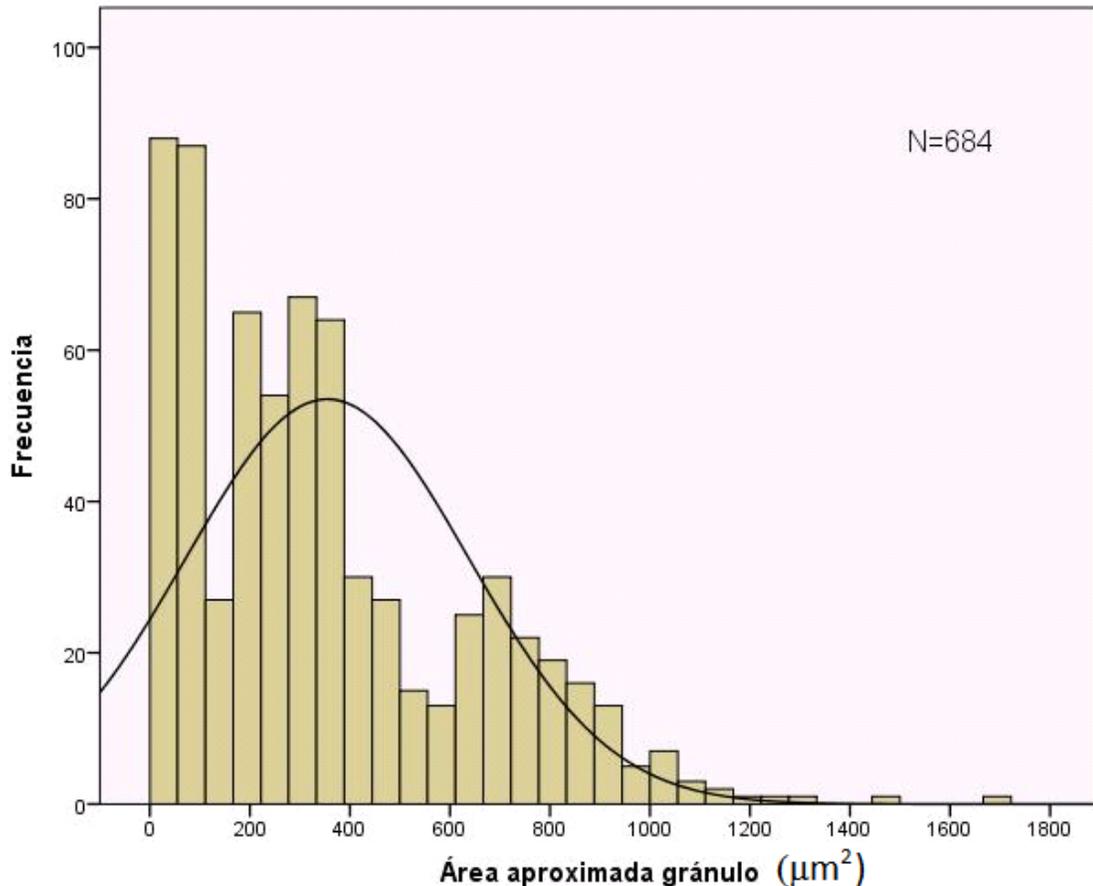


Figura 4. 35 Histograma con curva de normalidad de frecuencias del área aproximada (μm^2) de los gránulos de almidón medidos en el microscopio electrónico.

En los Cuadros 8A, 9A, y 10A (Anexos) se muestran las cifras de las pruebas no paramétricas para las dimensiones de los gránulos nativos de almidón de haba cuyas clases establecidas (1 a 4) se observan en Cuadro 3.3 del apartado de materiales y métodos. También se muestra en el cuadro 11A (Anexos) los promedios de tamaños de gránulo por cultivar.

En la Figura 4.37 se muestran los conteos totales de los gránulos de almidón de las microimágenes, por tamaños, en porcentajes por clase, que representan de forma aproximada la distribución real de los tamaños de los gránulos de almidón nativo de haba.

El tamaño de los gránulos del almidón nativo de haba no fue uniforme y presentó diversidad de proporciones (Figura 4.36). Por un lado, se ha documentado que los gránulos grandes se correlacionan positivamente con el contenido de amilosa aparente, y los atributos térmicos y funcionales de los almidones son en función del tamaño del gránulo de almidón y del contenido

de amilosa (Seetharaman *et al.* 2001). En maíz por ejemplo, el tamaño del gránulo de almidón se puede correlacionar negativamente con las temperaturas pico y final de gelatinización, pero se pueden correlacionar positivamente con la entalpía de gelatinización, lo cual sugiere que los gránulos grandes gelatinizan a temperaturas más bajas y entalpías más altas que los gránulos pequeños (Narváez-González 2007).

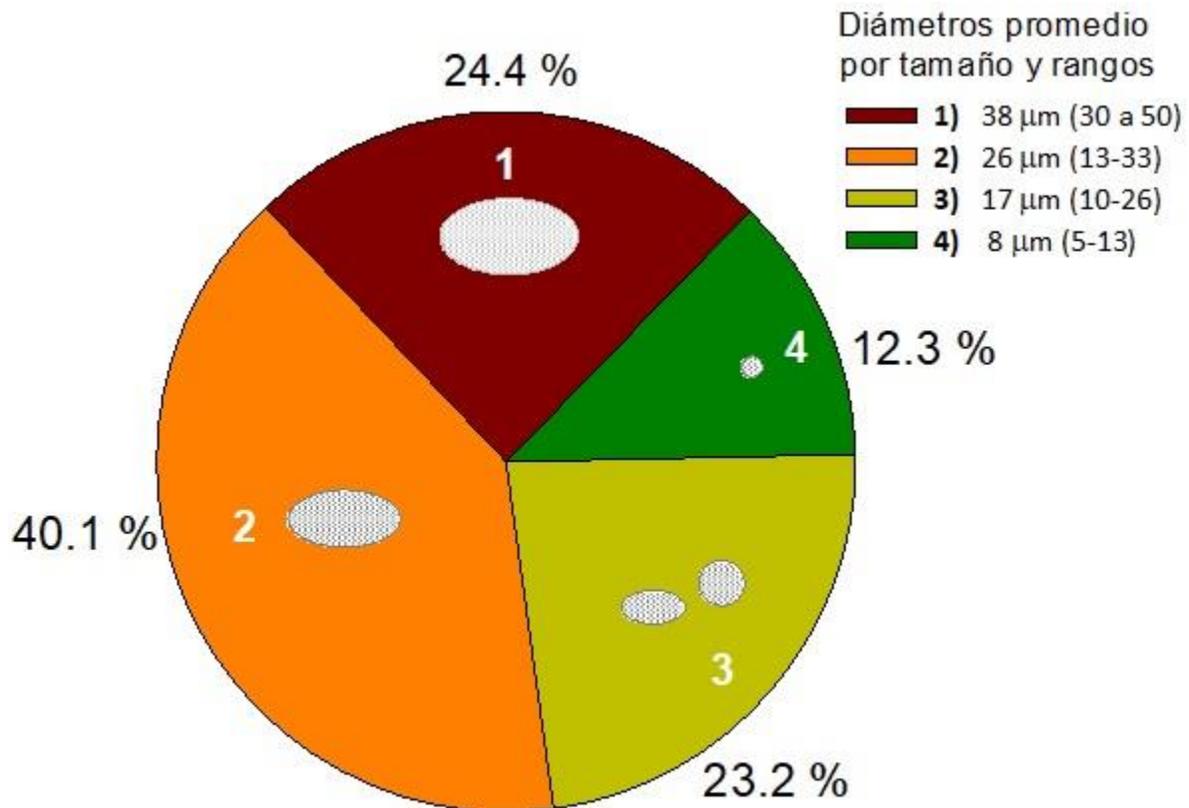


Figura 4.36 Porcentajes aproximados de los tamaños de gránulos en el almidón nativo de haba.

4.5 Correlaciones

En los Cuadros 4.18, y 12A a 15A del anexo se concentran correlaciones con significancia. Para fines de descripción de los resultados, en este apartado solo se discutirán las correlaciones que presentaron significancia, y se consideraron relevantes. Los granos de mayor grosor se asociaron con contenido mayor de amilopectina ($r=0.458^*$) (Cuadro 4.18).

Cuadro 4.18 Correlaciones con significancia entre variables de caracteres de grano de haba y variables químicas y funcionales del almidón.

Correlación		R	Pr	N
A	B			
Largo	Ancho	0.9739	***	19
	Peso	0.9251	***	19
	Volumen	0.9543	***	19
	Claridad 24h	-0.5473	*	19
	Claridad 72h	-0.4809	*	19
	I. Absorción agua	0.6427	*	13
	I. Color ΔE	0.5027	*	19
Ancho	Peso	0.9624	***	19
	Volumen	0.9782	***	19
	Claridad 24h	-0.5569	*	19
	Claridad 72h	-0.5232	*	19
	I. Absorción agua	0.6401	*	13
	I. Solubilidad agua	-0.6026	*	13
Grosor	Amilosa	-0.4580	*	19
	Amilopectina	0.4580	*	19
	Amilosa/Amilop	-0.4561	*	19
Peso	Volumen	0.9868	***	19
	Claridad 24h	-0.5365	*	19
	I. Absorción agua	0.6061	*	13
	I. Solubilidad agua	-0.6213	*	13
	I. Color ΔE	0.4569	*	19
Volumen	Almidón soluble	0.4578	*	19
	Claridad 24h	-0.5429	*	19
	Claridad 72h	-0.5004	*	19
	I. Absorción agua	0.6165	*	13
	I. Solubilidad agua	-0.6267	*	13
Almidón total	I. Color ΔE	0.4800	*	19
	I. Absorción agua	0.5605	*	19
	Almidón resistente	Claridad 0h	-0.6891	**
Almidón soluble	Claridad 72h	-0.5154	*	19
	I. Absorción agua	0.5768	*	19
Amilosa	Azúcares solubles	0.4668	*	19
	Claridad 0h	0.5071	*	19
Amilopectina	Azúcares solubles	-0.4668	*	19
	Claridad 0h	-0.5071	*	19
Ami./Amilopec.	Azúcares solubles	0.4678	*	19
	Claridad 0h	0.5152	*	19

*** Pr < 0.001, ** Pr < 0.01, * Pr < 0.05. A = Variable 1, B = Variable 2, r = coeficiente de correlación Pearson entre A y B, Pr = significancia estadística, N = número de categorías de promedios.

El grosor fue la única variable que tuvo una correlación con la proporción de amilosa-amilopectina ($r=-0.456^*$), los granos más gruesos tienden a presentar menor contenido de amilosa. Esto sugiere que independientemente del cultivar, el grosor confiere en parte una determinada organización celular del endospermo y por tanto una determinada composición química de los amiloplastos en donde se almacena el gránulo de almidón.

Los demás caracteres del grano (largo, ancho, peso y volumen) se correlacionan particularmente con propiedades funcionales del almidón, las correlaciones más altas fueron con los índices de absorción de agua y de solubilidad en agua. Por ejemplo el largo, ancho, peso, y volumen del grano se correlacionan positivamente con el índice de absorción de agua del almidón (respectivamente $r =0.643^*$, $r=0.640^*$, $r=0.606^*$, $r=0.616^*$), pero también se presentó una correlación negativa entre el ancho, peso, y volumen con el índice de solubilidad (respectivamente $r=-0.602^*$, $r=-0.621^*$, $r=-0.627^*$). Se detectó que los granos grandes tendieron a producir almidones con pastas más turbias, lo cual se asoció con una correlación negativa entre las dimensiones de los granos con porcentajes de transmitancia de luz en la claridad de pasta relaciono (Cuadro 4.18).

Se observó que la prueba funcional de la claridad del almidón a 0 horas (transmitancia de luz por formación de pasta) se asoció de forma inversa con el contenido de almidón resistente ($r=-0.689^{**}$, Cuadro 12A). Entre más baja fue la claridad al iniciar la formación de la pasta, el contenido de almidón resistente fue mayor. Lo cual concuerda con la afirmación de Sajilinata *et al.* (2007), quienes mencionan que el contenido de almidón resistente se relaciona con los gránulos menores de $15\ \mu\text{m}$, los cuales, al mismo tiempo requieren más energía, o representan más dificultad para gelatinizar (Narváez-González *et al.* 2007), lo que conlleva a generar turbidez u opacidad en las pastas. Esto se refleja en una transmitancia de luz baja, y una pasta más turbia u opaca, en especial al iniciar el proceso de formación de ésta, precisamente en la Claridad 0 h.

4.6 Análisis de la distribución de la variación de 13 colectas de cinco cultivares cultivadas en Tlachichuca 2007 (22Cb, 93Ca, 146Cm, 160Cb, 281Ta, 288Ta), y San Cayetano 2011 (22Cb, 93Ca, 146Cm, 160Cb, 181, 281, 288)

Este análisis numérico se realizó para determinar las variables en las que se concentra la mayor variación o mayor parte de la varianza, e identificar grupos dentro factor cultivar. La dispersión de los 13 cultivares de *Vicia faba* L. representados en el espacio determinado por los tres primeros componentes principales, explicó 64.2% de la variación acumulada de 23 variables evaluadas (Cuadro 4.19).

Cuadro 4.19 Eigenvalores, y proporción acumulada de la variación explicada por cada variable, en las tres primeras dimensiones.

Variable	Componentes principales		
	1	2	3
Largo grano	0.3510	-0.0421	0.0432
Ancho grano	0.3588	-0.0519	0.1040
Grosor grano	-0.0890	-0.2803	0.2947
Peso 100 granos	0.3515	-0.0892	0.1025
Volumen 100 granos	0.3541	-0.0585	0.0949
Humedad almidón	0.0014	-0.0737	-0.1312
Rendimiento almidón	-0.1953	0.2333	0.0055
Almidón total	0.1523	0.1482	-0.1153
Almidón resistente	-0.1605	-0.0468	-0.1713
Almidón soluble	0.2538	0.1104	0.1590
Amilosa	0.0491	0.4550	-0.0520
Amilopectona	-0.0491	-0.4550	0.0520
Amilosa/amilopectina	0.0479	0.4546	-0.0498
Lípidos	0.0601	0.1769	0.3387
Cenizas	0.0420	-0.0958	0.3978
Azúcares solubles	-0.0700	0.2527	0.2541
Claridad 72 h	-0.2456	0.0322	-0.0594
pH almidón	0.0118	-0.1475	-0.1506
Índice absorción de agua	0.2996	-0.0255	-0.1945
Índice solubilidad en agua	-0.1858	-0.0724	-0.3756
Poder de hinchamiento	0.1913	-0.1963	-0.2746
ΔE (variación total de color)	0.2211	0.0211	-0.3388
IB (Índice de blancura)	-0.2284	-0.1288	0.2347
Eigenvalores	6.9487	4.4103	3.3993
Proporción	0.3021	0.1918	0.1478
Acumulada	0.3021	0.4939	0.6417

El componente principal 1 (CP1) explico 30.2% de la variabilidad, se asoció principalmente con las variables largo, ancho, peso, volumen del grano (Cuadro 4.19, Figura 4.37). Mientras que el componente principal 2 (CP2) explico 19.2% de la variación, se encuentra mayormente asociado con las variables de propiedades químicas del almidón como amilosa, amilopectina, y la relación de amilosa/amilopectina (Figura 4.37). El componente principal 3 (CP3) explico 14.8% y estuvo definido principalmente por el contenido de lípidos, cenizas, índice de solubilidad en agua, e índice de color ΔE del almidón (Figura 4.37).

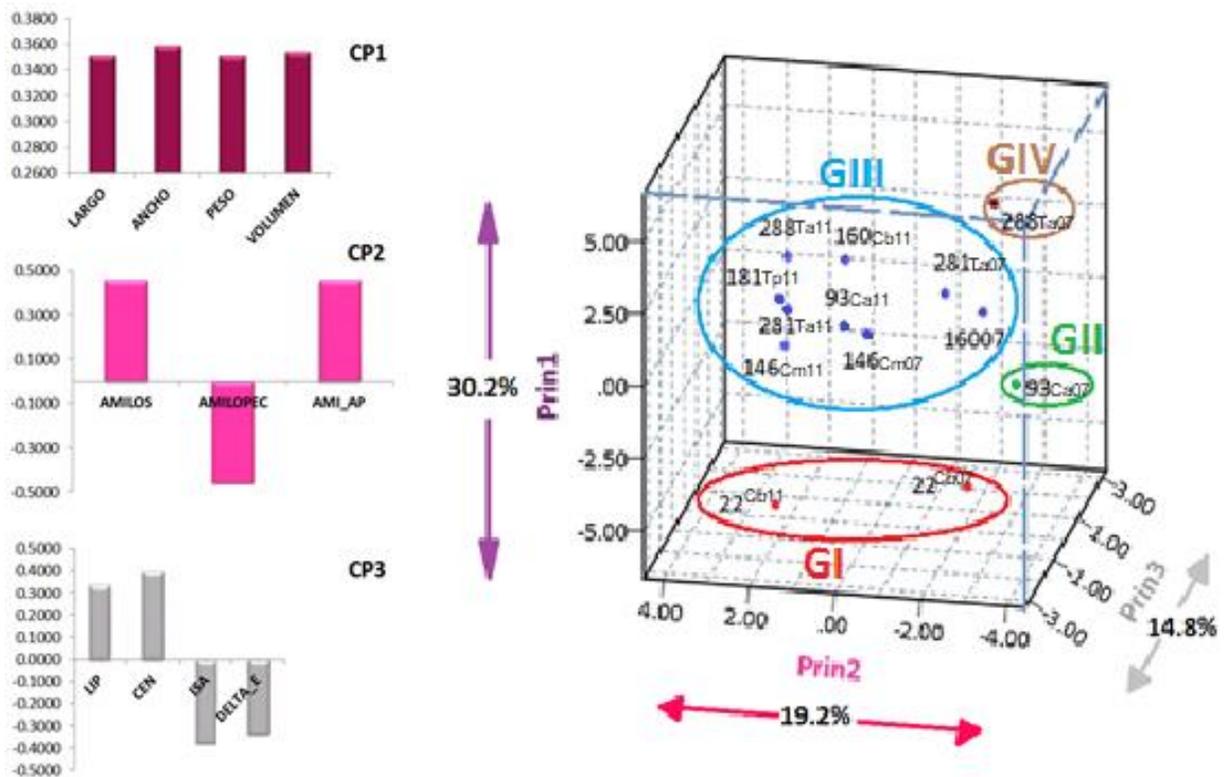


Figura 4.37 Gráfica de Gabriel que representa la dispersión de 13 cultivares de haba, con base en los tres primeros componentes principales del análisis de 11 variables agrupadas por media. AMILOS= amilosa; AMILOPEC=amilopectina; AMI_AP= amilosa/amilopectina; LIP=lípidos; CEN=cenizas; ISA=índice de solubilidad de almidón; DELTA_E= ΔE . GI=grupo I; GII=grupos II; GIII=grupo III; GIV=grupo IV.

En la Figura 4.38 se aprecia el dendrograma con la variación y las distancias euclidianas en las que se agrupan tales variaciones para las categorías del factor cultivar.

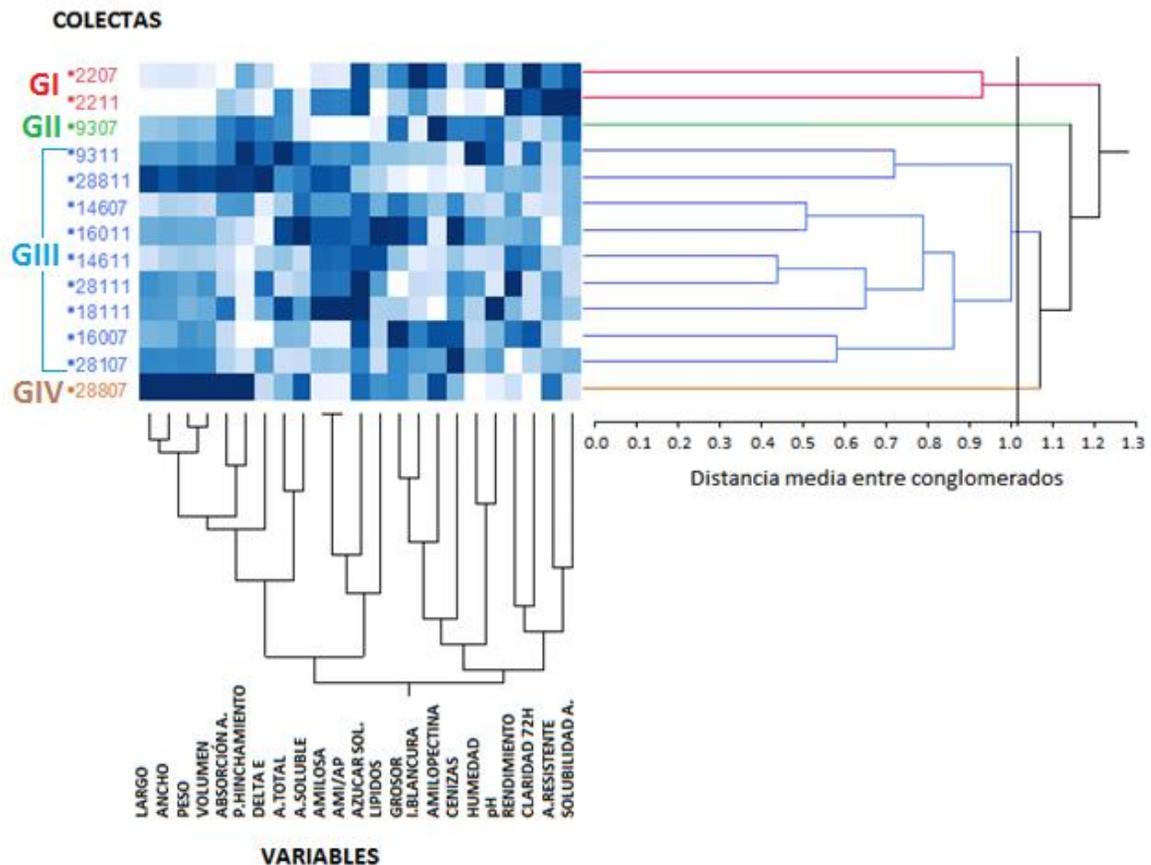


Figura 4.38 Dendrograma y agrupación de los 13 cultivares (seis de Tlachichuca 2007, y siete de San Cayetano 2011) con base en 23 variables, y agrupamiento por distancia de similitud para el factor cultivar. La intensidad en el color azul indica valores más altos o de concentración por variable.

El Grupo I, GI, representado por el cultivar ‘Cochinera blanca’ colecta 22 de Tlachichuca 2007 y San Cayetano 2011, se caracteriza por poseer las dimensiones más pequeñas de grano, y un índice de absorción de agua relativamente inferior a los restantes. El Grupo II, GII, está representado por el cultivar ‘Cochinera amarilla’ colecta 93 de Tlachichuca 2007, que se caracteriza principalmente por tener un tamaño medio de grano en relación a los grupos restantes, y una proporción inferior de amilosa en relación con todos los cultivares restantes. En el Grupo III, GIII, se agrupan nueve cultivares (93Ca de S. Cay.2011, 146Cm de Tla.2007 y de S.Cay. 2011, 160Cb de Tla. 2007 y de S. Cay. 2011, 181Tp de S.Cay 2011, 281Ta de Tla.2007 y de S.Cay.2011, y 288 Ta de S. Cay. 2011) que se caracterizan por tener un tamaño de grano de mediano a grande, hay relativa similitud en variables como amilosa, contenidos proximales y rendimiento de almidón,

y cuyos valores se acercan más a valores intermedios entre los grupos GII y GIV. Finalmente, el Grupo IV (GIV), representado por el cultivar ‘Tarragona amarilla’ colecta 288 de Tlachichuca 2007, se caracteriza por ser el de mayor tamaño de grano, con alto contenido de amilopectina, y rendimiento de almidón relativamente bajo.

En la Figura 4.39 se muestran las gráficas de análisis multivariante de coordenadas paralelas, en donde cada trazo representa la dimensión del comportamiento de cada cultivar para todas las variables, en la que se representa su contribución para la formación de cada grupo de forma bidimensional, y revela la relación entre las variables.

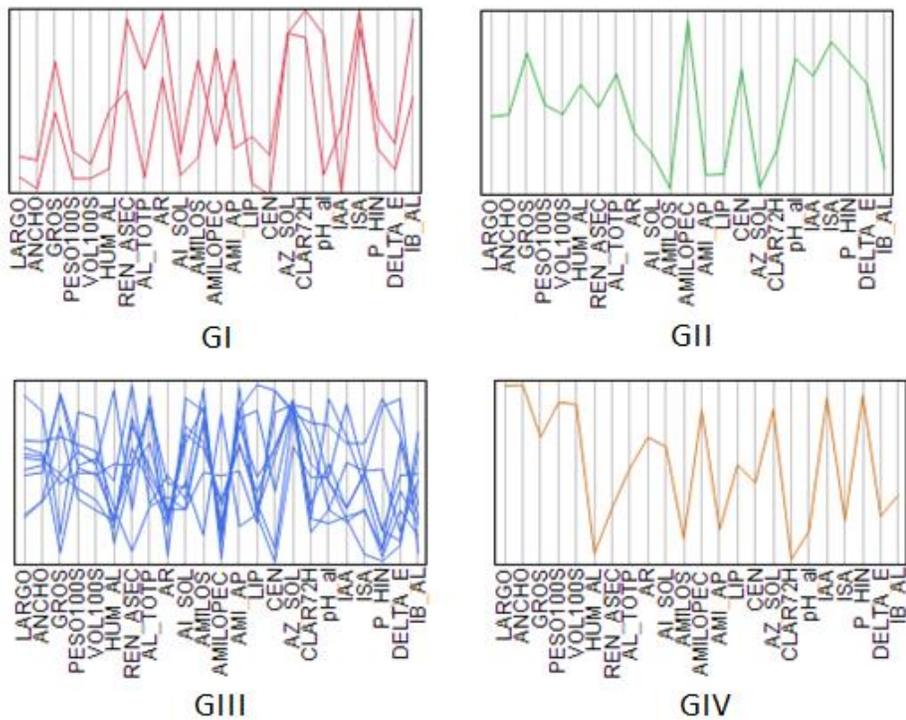


Figura 4.39 Gráficas de análisis de coordenadas paralelas para el factor cultivar sobre 13 cultivares de haba con 23 variables.

En éste caso se representan cuatro gráficas distintas de trazos paralelos múltiples que corroboran la formación de cuatro grupos distintos, y en donde los picos más altos coinciden con los valores más altos de cada variable y con las tonalidades más intensas del dendograma de la Figura 4.38.

V. DISCUSIÓN GENERAL

De acuerdo a los objetivos planteados, se determinó que todos caracteres morfológicos de los granos de haba presentan diferencias estadísticas significativas en función del factor cultivar en el largo, ancho, peso, volumen ($pr < 0.001$), y grosor ($pr < 0.01$). Dentro de las siete colectas de cinco cultivares analizadas se diferenció en primer lugar el cultivar ‘Tarragona amirilla’ colecta 288 tanto de Tlachichuca 2007 como de San Cayetano 2011, por poseer granos con mayores dimensiones (medias de 27 mm de largo, 19 mm de ancho, peso de 100 granos de 234 g a 242 g, y volumen de 100 granos entre 228.5 y 240 mL), ver Figuras 4.2 y 4.3; después se diferenciaron los cultivares ‘Tarragona amarilla’ colecta 281, ‘Tarragona parraleña’ 181, ‘Cochinera amarilla’ colecta 93, y ‘Cochinera blanca’ colecta 160, cuyas dimensiones de grano son intermedias en relación con los restantes (medias de largo entre 23 y 25 mm, ancho entre 16.2 y 17.5, peso de 100 granos entre 167 y 207 g, y volumen de 100 granos entre 171 y 199 mL); y finalmente se diferenciaron los cultivares ‘Cochinera morada’ colecta 146, y ‘Cochinera blanca’ colecta 22, que poseen las dimensiones más pequeñas (medias de largo entre 20 y 21 mm, ancho entre 13.7 y 15.7 mm, peso de 100 granos entre 114 y 167 g, y un volumen de 100 granos entre 114 y 157 mL) (Ver imágenes en Figura 1A, Anexo; Figuras 4.2, y 4.3). Diferencias entre las localidades Tlachichuca 2007 y San Cayetano 2011 tuvieron mayor significancia estadística en el grosor, y peso (ambos $pr > 0.001$), 7.5 mm grosor de Tlachichuca, 7.1 mm grosor de San Cayetano; peso en Tlachichuca 190 g, peso en San Cayetano 181.2 g. El grosor fue la única característica del grano que presentó una correlación con el contenido de amilosa ($r = -0.458^*$, ver Cuadro 4.18). Esto demuestra que tanto el grosor, como la composición química del almidón en estos cultivares respondieron a diferencias ambientales (también se muestra en la Figura 4.15 y Cuadro 4.9).

En cuanto a variaciones en función del ambiente, para los cultivares ‘Tarragona amiralla’ colecta 89 y ‘Taragona parraleña’ colecta 181 se encontraron diferencias con nivel significativo en el peso ($pr < 0.001$), volumen ($pr < 0.01$) y largo ($pr < 0.05$) entre Zoapan 2007 y Tlachichuca 2007, presentándose mayores magnitudes en Zoapan 2007 sobre todo en peso (213.9 g en Zoapan, 188.4 g en Tlachichuca).

En cuanto a variación de caracteres de grano en función del año de cosecha, se encontró que las dimensiones de los granos del cultivar ‘Taragona parraleña’ 181, con el tiempo disminuyeron

en un nivel estadístico altamente significativo del año 2006 al 2012, en el largo, ancho, peso y volumen (todos con $p < 0.001$), ver Figura 4.8. Estos resultados coincidieron con una precipitación inferior durante la temporada 2012 (510mm en marzo – noviembre 2012, 685 mm en 2011, 694 en 2006), así como las temperaturas mínimas en 2011, y 2012 fueron inferiores con mayor probabilidad de heladas (Cuadro 2A, Anexos).

En relación con el método de extracción de almidón seleccionado, se obtuvieron porcentajes de rendimiento entre 28.7 y 43.7% m.s.; a partir de muestras de 25 g (peso tal cual) de harina de granos de haba sin testa. Variaciones significativas del rendimiento se encontraron sólo en función del cultivar ($p < 0.05$), ver Cuadros 4.4, 4.5, y 4.6. El cultivar ‘Tarragona amarilla’ colecta 281 fue el de mayor promedio de rendimiento con 43.7% m.s. (Figura 4.9), mientras que el cultivar con rendimiento más bajo fue el mismo cultivado en Tlachichuca 2007, con 28.7% (Figura 4.9). Condiciones de temporal o de riego, o la disponibilidad de humedad en suelo, influyen significativamente en el rendimiento de almidón de algunos genotipos de frijol (Ovando-Martínez *et al.* 2011), para éste caso no se encontraron diferencias relevantes entre las categorías de ambiente, y año, aunque si se encontró diferencia entre el cultivar ‘Tarragona amarilla’ colecta 281Ta de Tlachichuca 2007 y el mismo de San Cayetano 2011 en proporción directa a la precipitación acumulada (Tlachichuca 2007, 529 mm de precipitación acumulada; San Cayetano 2011, 685 mm de precipitación), ver Cuadros 4.5, y 4.6, Figura 4.8, y Cuadro 3A.

Para los análisis proximales (lípidos, nitrógeno total, azúcares solubles, cenizas, humedad) y de pH, se encontró que los contenidos fueron en general aceptables, considerando algunos estándares de almidones comerciales (Aristizábal y Sánchez, 2007) y ejemplos de almidón de maíz (Lorenz y Collins 1979), de haba (Sofi *et al.* 2013), y de otras leguminosas como lenteja (Sandhu y Lim 2008). En cuanto a variaciones en función del cultivar, ambiente, y año de cosecha no se consideraron tales diferencias de importancia relevante, por tratarse de componentes menores, que solo están presentes como residuos provenientes de la harina de donde fue extraído el almidón, las concentraciones resultantes pueden estar más relacionadas con la habilidad en cada extracción en el laboratorio, la efectividad de método, y no necesariamente con los factores año de cosecha, ambiente, y cultivar, pues los contenidos reales para relacionarlos estadísticamente de forma correcta con el año de cosecha, cultivar, y ambiente, sólo están en la harina, lo cual en éste trabajo no se incluye. En el contenido de cenizas se tuvieron promedios entre 0.04 y 0.24%p.s. (Figuras

4.19, a 4.23), en el contenido de lípidos los promedios fueron entre 0.08 a 0.64% p.s. (Figuras 4.19 a 4.23). En el contenido de azúcares solubles se encontraron promedios entre 0.008 y 0.01% p.s. (Figuras 4.19 a 4.23). En el contenido de nitrógeno total se detectaron solo trazas (Cuadro 7 A, Anexos). Los promedios de humedad en el almidón variaron entre 8.6 y 19.3% con poca uniformidad debido a que se hicieron secados en la mayor parte de las muestras a temperatura ambiente y solo una parte se probó con secado en estufa. En los resultados de pH, estos variaron entre 7.8 y 8.5 (Figuras 4.19 a 4.23), resultando un poco alto en relación con la harina de haba cuyo pH es cercano a 6.5, debido a que las extracciones se realizaron en un medio alcalino.

Para las propiedades químicas del almidón puro, se encontraron diferencias significativas en función del cultivar en el almidón resistente ($pr < 0.05$), almidón soluble ($pr < 0.001$), y en la relación de Amilosa y amilopectina ($pr < 0.05$), ver Cuadro 4.8. En función de cultivares (7 de Tlachichuca 2007, y 7 de San Cayetano 2011), el promedio de almidón total fue de 84.7% p.s., de amilosa 26.8% p.s. y de amilopectina 73.3% p.s. (Cuadro 4.8). Las medias de almidón resistente variaron de 3.3% p.s. (181-Tla.07) a 7.4% p.s. (22-Cay.11), ver Figuras 4.12, y 4.13. Las medias de almidón soluble variaron entre 73.9% p.s. (22-Tla.07) y 88.4% p.s. (160-Cay.11), ver Figuras 4.12, y 4.13. En cuanto a la relación de amilosa/amilopectina ésta varió de 0.27 (93-Tla.07) a 0.44 (181-Cay.11), ver Figuras 4.12, y 4.13.

En función del ambiente, para los cultivares 89Ta y 181Tp, se detectaron cambios en las propiedades químicas del almidón, principalmente en los contenidos de amilosa y amilopectina (Cuadro 4.9), ya que el almidón de los cultivares provenientes de Zoapan 2007 (28.2% p.s.) presentaron un promedio de amilosa significativamente superior ($pr < 0.001$) sobre los de Tlachichuca 2007 (25.5% p.s.), ver Figura 4.15. Los contenidos de Amilosa de los siete cultivares de San Cayetano 2011 (29 % p.s.), fueron también significativamente superiores ($pr < 0.001$) a los de Tlachichuca 2007 (24.6%), (Figura 4.14), esto corrobora que diferencias ambientales influyen en el contenido de Amilosa. Al respecto, esto coincide con lo que afirman Cameron *et al.* 2007 donde las temperaturas mínimas cercanas a la cosecha, tienen influencia en el contenido de amilosa. En Zoapan 2007 y San Cayetano 2011 las temperaturas mínimas fueron inferiores en relación a Tlachichuca 2007 (0.5°C en Zoapan 2007, - 1.5°C en San Cayetano 2011, 1°C en Tlachichuca 2007, en noviembre) lo cual coincide con el contenido superior de Amilosa en los almidones provenientes de Zoapan y San Cayetano, en relación a los de Tlachichuca. Hubo

variación en el contenido de almidón total entre los siete cultivares de San Cayetano 2011 y Tlachichuca 2007, pues se encontró un contenido significativamente superior ($pr < 0.01$) en San Cayetano 2011 (87% p.s.) sobre Tlachichuca 2007 (82.4% p.s.), ver Figura 4.14. La precipitación fue superior en San Cayetano 2011 (685 mm en S. Cayetano 2011, 529 mm en Tlachichuca 2007), lo que se traduce en una mayor disponibilidad de humedad en suelo (Ver Cuadros 1 A y 3 A) en comparación con Tlachichuca 2007, lo cual coincide con un mayor contenido de almidón total en San Cayetano 2011, esto se corrobora con lo que afirma Ovando-Martínez *et al.* (2011), algunos genotipos de frijol responden con un mayor contenido de almidón total cuando hay mayor disponibilidad de humedad en suelo.

En las propiedades químicas del almidón en función del año de cosecha, no se detectaron diferencias en el contenido de amilosa y amilopectina, pero sí en el almidón total ($pr < 0.05$), almidón resistente ($pr < 0.01$) y almidón soluble ($pr < 0.01$), ver Cuadro 4.10. Al respecto se encontró que el almidón del año 2006 (año en el que la precipitación fue superior, 694 mm, 685 en 2011, y 510 mm en 2012), sobresalió por tener un contenido de almidón total más alto con significancia estadística (100%p.s., $pr < 0.05$), en relación a las cultivares de los años 2011 (95.5%p.s.) y 2012 (85.4%p.s.), lo que sugiere que el tiempo de almacenamiento de los granos no influyó negativamente en el almidón total, en cambio, la precipitación sí (Figura 4.18, Cuadro 2A Anexos). En el almidón resistente, el contenido promedio del año 2006 y 2011 destacó con valores de 5.1 a 5.6% p.s. respectivamente, respecto al contenido promedio del 2012 (3.4% p.s.) (Figura 4.18). En el almidón soluble, en el año 2011 se tuvo un promedio significativamente mayor (82.1% p.s.) en relación con los del 2006 y 2012, ambos cercanos a 75 p.s. (Figura 4.18).

En cuanto a propiedades funcionales en el almidón nativo de haba, se encontró variación en función del cultivar en el índice de absorción de agua, claridad 0 h y claridad 24h principalmente ($pr < 0.001$), aunque también hubo diferencias en la claridad 48 h ($pr < 0.01$), y con menor significancia en el poder de hinchamiento, y la claridad 72 h (ambos $pr < 0.05$), ver Cuadro 4.11. Los índices de absorción de agua, de poder de hinchamiento y solubilidad en agua evaluados a 80 °C fueron probablemente influidos por el pH alto del almidón (pH entre 7.8 y 8.5). Para el índice de solubilidad de agua sobresalieron los cultivares 22Cb de Tlachichuca (16.5%), y 22Cb de San Cayetano 2011 (17%), mientras que los cultivares 160Cb de Tlachichuca 2007, 146Cm, y 281Ta de San Cayetano 2011 presentaron índices de solubilidad de 12.3%, 13.5% y 13.5%,

respectivamente (Figuras 4.24, y 4.25). Para el poder de hinchamiento, sobresalieron los cultivares 288Ta de Tlachichuca 2007, 93Ca, y 288Ta ambos de San Cayetano 2011, con promedios de 15.5, 15.7 y 15.5 (g de agua/g de almidón) respectivamente; mientras que los cultivares 160 de Tlachichuca 2007, 181, y 146 ambos de San Cayetano 2011, presentaron promedios de poder de hinchamiento de 12.6, 12.8, y 12.7 (g de agua/g de almidón) respectivamente (Figuras 4.24, y 4.25). Para el índice de absorción de agua sobresalieron los cultivares 288 tanto de Tlachichuca 2007 como de San Cayetano 2011, con 13.6, y 13.5 (g de agua/ g de almidón) respectivamente; mientras que los cultivares 22-07, 160-07, 146 y 281 tuvieron índices de absorción de agua de 10.05, 11.07, 10.9, y 11.1 respectivamente (Figuras 4.24, y 4.25). En cuanto a claridad de pasta se encontró que el almidón nativo de haba se caracteriza por producir pastas turbias o carentes de claridad, debido en parte a su alto contenido de amilosa. Esto indica que puede ser deseable para fines específicos, como en alimentos poco transparentes, y donde se desea mayor espesor. También se encontró que las diferencias de porcentaje de transmitancia fueron más marcadas en el punto inmediato al obtener la pasta (0 h), y conforme al tiempo de 24 h a 72 h las variaciones de transmitancia disminuyeron (Figuras 4.24 a 4.27). En relación a la claridad al tiempo 0 h sobresalieron los cultivares ‘Cochinera morada’ colecta 146 de Tlachichuca 2007, y ‘Tarragona amarilla’ colecta 288 de San Cayetano 2011, con una claridad significativamente mayor en relación al resto, de 1.49 y 1.39 respectivamente, a partir de 24 h hasta las 72 h todos porcentajes de transmitancia disminuyeron hasta alrededor de 0.3 (Figuras 4.24 a 4.27).

En cuanto a las propiedades funcionales en función del ambiente, se encontró que los promedios iniciales de transmitancia a 0h, 24h, y 48h fueron significativamente ($p < 0.01$) superiores en Tlachichuca 2007 (1.38% en Tla., 1.19 en Zoa. en 0h) sobre los de Zoapan 2007, posteriormente de a 72 h las variaciones disminuyeron a valores cercanos a 0.28 sin diferencia significativa (Figura 4.26). Para el caso de variaciones en las propiedades funcionales en función de año de cosecha no se detectaron diferencias significativas (Ver Cuadro 4.13, y Figura 4.27). La claridad presentó una correlación negativa con las dimensiones del grano (largo, ancho, peso, y volumen), mientras que el índice de absorción de agua tuvo una correlación positiva con las dimensiones del grano (claridad 24 h-Largo $r = -0.5473^*$, IAA-Largo $r = 0.6427^*$, Cuadro 4.18). Se encontró una correlación negativa significativa entre la claridad 0 h y el contenido de almidón resistente ($r = -0.689^*$).

En las propiedades físicas del almidón en función del cultivar, respecto al color los índices de blancura (IB), e índices de variación total de color entre muestras (ΔE), presentaron variaciones significativas. Al respecto sobresalieron los cultivares ‘Cochinera blanca’ - 22, y ‘Cochinera blanca’ - 160, tanto de Tlachichuca 2007 como de San Cayetano 2011, cuyos almidones tuvieron los IB más altos (94.36, 93.03, 93.4, y 93.7 respectivamente), y valores de ΔE relativamente bajos (2.61, 2.04, 1.96, y 2.05 respectivamente) (ver Figuras 4.29 y 4.30). No se encontraron diferencias estadísticas significativas en función del ambiente o año de cosecha.

En cuanto a la morfología de los gránulos de almidón nativo de haba, se observó que las formas son predominantemente ovaladas, aunque los gránulos de menor tamaño tienden a ser esféricos, también se observaron formas irregulares en los gránulos más grandes, las superficies son lisas. Se encontró que las dimensiones de los gránulos poseen un grado de diversidad tal, que estadísticamente no tiene una distribución normal (Cuadro 4.17, y Figuras 4.34 y 4.35), lo que hizo difícil determinar con exactitud, si existe variación de los promedios de los tamaños de granulos, en función del cultivar, ambiente, o año de cosecha. También se realizaron análisis de su distribución, o pruebas no paramétricas (Ver Cuadro 8 A, 9 A, y 10 A, de Anexos), pero por la diversidad de tamaños, no se lograron encontrar diferencias relevantes específicas para los factores cultivar, ambiente, o año de cosecha. En cuanto a una proporción aproximada de frecuencias de tamaños según los muestreos de micro_imágenes, se encontró que aproximadamente 24% de los gránulos poseen un diámetro mayor o largo de 30 a 50 μm (forma predominante ovalada, o irregular en gránulos más grandes), 40% mide entre 13 y 33 μm en su lado más largo, con formas predominantes ovaladas, 23% tienen un largo entre 10 y 26 μm con formas esféricas y ovaladas, y aproximadamente 12% son gránulos pequeños esféricos entre 5 y 13 μm de diámetro (Figura 4.36). Evidentemente la morfología de los gránulos de almidón de haba, es un factor importante (además del contenido de amilosa) en su forma de gelificación (Narváez-González *et al.* 2007).

En general, el almidón de haba se caracterizó por contener una proporción importante de Amilosa (en un rango de 21.5% a 30.6%), posee una blancura de buena calidad, forma geles opacos y carentes de claridad, que pueden ser adecuados para conferir espesor en alimentos no transparentes agregando una mejor textura y una mejor digestión.

VI. CONCLUSIONES

De acuerdo a la hipótesis que se planteo acerca de que las características morfológicas de las semillas varían significativamente según el cultivar de haba, ambiente de desarrollo, y/o año de cosecha. Además de que el rendimiento de almidón extraído, sus propiedades químicas, físicas, y / o funcionales varían significativamente según el cultivar, ambiente, y año de cosecha. O que existe alguna correlación significativa entre caracteres morfológicos del grano y alguna variable analizada. Se establecen las siguientes conclusiones:

Los caracteres de los granos de haba presentaron variaciones significativas entre cultivares, a excepción del grosor, el cual presentó variaciones con mayor significancia con respecto al ambiente. En cuanto al año de cosecha, las dimensiones disminuyeron progresivamente (2006 a 2012), coincidiendo en proporción directa con la cantidad de precipitación acumulada en la temporada y temperaturas mínimas.

El rendimiento de almidón extraído varió significativamente de acuerdo al cultivar entre 28.3 y 43.7% (m.s), el cultivar 281 de San Cayetano 2011 tuvo un rendimiento significativamente diferente al mismo de Tlachichuca 2007 (San Cayetano 2011, 43.7% m.s.; Tlachichuca 2007, 28.3%), coincidiendo en proporción directa con la precipitación acumulada (529 en Tlachichuca, 685 en San Cayetano).

En las propiedades químicas del almidón hubo diferencias significativas entre cultivares en el almidón resistente (de 3.3 a 7.4%), almidón soluble (73.9 a 88.4%), y en la relación Amilosa/amilopeptina (0.27 a 0.44). De acuerdo al ambiente las variaciones más relevantes fueron en el contenido de Amilosa, que fue significativamente mayor tanto en San Cayetano 2011 (29% p.s.) como en Zoapan 2007 (28.2% p.s.) ambientes en los que se presentaron temperaturas mínimas más bajas, en relación a Tlachichuca 2007 (25% p.s.). Hubo diferencias significativas en el almidón total entre las localidades de Tlachichuca 2007 y San Cayetano 2011, donde la precipitación mayor, coincidió con un mayor porcentaje de almidón total. De acuerdo al año de cosecha hubo diferencias en almidón total, almidón resistente, y almidón soluble.

Los análisis proximales (lípidos, azúcares solubles, nitrógeno total, cenizas, humedad) mostraron cantidades aceptables sin diferencias relevantes.

Los almidones con mayor índice de solubilidad fueron los extraídos de cultivares de granos más pequeños (cultivar ‘Cochinera blanca’- 22 de Tlachichca y San Cayetano). En cuanto a claridad de pasta, el almidón nativo de haba se caracterizó por producir pastas opacas, carentes de claridad, el rango de variación en las medias del porcentaje de transmitancia de 0 h a 72 h fue de 1.49 a 0.27%.

Los cultivares con mayor contenido de almidón resistente se correlacionaron negativamente con la claridad 0 h ($r=-0.689^{**}$).

El color del almidón tuvo un índice de blancura (IB) entre 91.7 y 94.4, la variación de color (ΔE) fluctuó entre 1.96 y 5.13.

La morfología de los gránulos del almidón nativo fue diversa con una distribución de tamaños anormal, formas esféricas, ovaladas, e irregulares, superficies lisas carentes de poros, y longitud del lado más largo entre 5 y 50 μm . Las características de estos almidones sugieren su uso en preparaciones de alimentos opacos donde predominen carbohidratos, para conferir textura, y mejorar la calidad digestiva.

VII. LITERATURA CITADA

- Alvis A, H Villada y D Villada 2008. Efecto de la temperatura y tiempo de fritura sobre las características sensoriales del ñame (*Dioscorea alata*). Información Tecnológica 19(5): 19-26.
- Abad M C, K Binderup, J Rios-Steiner, RK Arni, J Preiss 2002. The x-ray crystallographic structure of *Escherichia coli* branching enzyme. Journal of Biological Chemistry 277: 42164–42170.
- AACC 1995. Approved Methods. Method number 76-13. Total starch assay procedure (Megazyme amyloglucosidase/alpha-amylase method). St Paul, Minnesota: AACC.
- Anderson R, Conway H F, Pheiser V F, Griffin E L 1969. Gelatinisation of corn grits by roll and extrusion cooking. Cereal Science Today 14: 4-12.
- ASERCA 2000. El haba y su carácter multifuncional en la agricultura. Claridades Agropecuarias. SAGARPA - ASERCA. México.
- AOAC 2000. Official Methods of Analysis Association of Analytical Chemists.
- AOAC 2002. Official Methods of Analysis Association of Analytical Chemists.
- Anon J 1987. Measurement of the starch content of commercial starches. Starch 39: 414-416
- Aristizábal J, T Sánchez 2007. Guía Técnica para Producción y Análisis de almidón de Yuca. Boletín de servicios agrícolas de la FAO, Roma 163: 73-75.
- Atwell W A, L F Hood, D R Lineback, E Varriano-Marston, H F Zobel 1988. The terminology and methodology associated with basic starch phenomena. Cereal Foods World 33: 306–311.
- Bateman A 1999. The SIS domain: a phosphosugar-binding domain. Trends Biochemistry Science 24: 94–95.

- Batey I L 1982. Starch analysis using thermostable alpha-amylase. *Starch* 34: 125-128.
- Baldwin P M 2001. Starch granule-associated proteins and polypeptides: A review. *Starch-Starke*, 53: 475–503.
- Ballicora M A, Iglesias A, Preiss J 2004. ADP-glucose pyrophosphorylase: a regulatory enzyme for plant starch synthesis. *Photosynthesis Research*. 79:1–24.
- Batey I L 1982. Starch analysis using thermostable alpha-amylase. *Starch* 34: 125-128.
- Bjerg B, E Ebmeyer, B O Eggum, T Larsen, G Röbbelen, H Sorensen 1988. The Nutritive Value of Ten Inbred Lines of Faba Beans (*Vicia faba* L.) in Relation to their Content of Antinutritional Constituents and Protein Quality. Paul Parey Scientific Publishers, Berlin and Hamburg. *Plant Breeding* ISSN 0179-9541 101: 277-291.
- Bjerg B, B O Eggum, I Jacobsen, O Olsen, H Sorensen 1984a. Protein quality in relation to antinutritional constituents in faba beans (*Vicia faba* L.). The effects of vicine, convicine and dopa added to a standard diet and fed to rats. *Z. Tierphysiol., Tierernährg u. Futtermittelkde* 51: 275-285.
- Björck I, Granfeldt Y, Liljeberg H, Tovar J & Asp NG 1994. Food properties affecting the digestion and absorption of carbohydrates. *American Journal of Clinical Nutrition* 59: 699S–705S.
- Boehlein SK, SewellAK, Cross J, Stewart JD, Hannah LC 2005. Purification and characterization of adenosine diphosphate glucose pyrophosphorylase from maize/potato mosaics. *Plant Physiology*. 138: 1552–62.
- Bolaños N V, G C Lutz, C H R Herrera 2003. *Química de los alimentos: Manual de laboratorio* 10.
- Bressani R, I L Estrada 1994. Effect of lime cooking of grain amaranth on selected chemical components and its protein quality. *Journal Agricultural and Food Chemistry* 42(9):1998-2001.

- Brevedan R E, M N Fioretti, S S Baioni, I R Palomo, H Laborde 2007. Fertilización nitrogenada de soja bajo riego. *Revista Internacional de botanica experimental φYTON* 76: 153-167.
- Brighenti F, M C Casiraghi, C Baggio 1998. Resistant starch in the Italian diet. *British Journal of Nutrition* 80: 333–341.
- Brillouet J M, D Riochet 1983. Cell wall polysaccharides and lignin in cotyledons and hulls of seeds from various lupin (*Lupinus L.*) species. *Journal of Science and Food Agriculture* 34: 861–868.
- Buleon A, P Colonna, V Planchot, S Ball 1998. Starch granules: structure and biosynthesis. *International Journal of Biological Macromolecules* 23: 85 – 112.
- Cameron D K, Y J Wang, K A Moldenhauer 2007. Comparison of starch physicochemical properties from medium-grain rice cultivars grown in California and Arkansas. *Starch*. 59: 600-608.
- Cano J B 1994. Habas de huerta. *Publicaciones de Extensión Agraria (ISBN 84-341-0119-X)* 1 – 6.
- Cavalier-Smith T 2009. Predation and eukaryote cell origins: a coevolutionary perspective. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 41: 307–322.
- Cereda M P, U de A Lima 1981. Aspectos sobre a fermentação da fécula de mandioca. II. Controle das fermentações realizadas em laboratório. *Boletim da Sociedade Brasileira de Ciências e Tecnologia, Campinas* 15(2): 107-22, abr/jun.
- Chang A, M Scheer, A Grote, I Schomburg, D Schomburg 2009. BRENDA, AMENDA and FRENDA the enzyme information system: new content and tools in 2009. *Nucleic Acids Research*. 37 (Database issue): D588–592.
- Chavan U D, B N Kevate, S S Kadam, J K Chavan, R Amarowicz 2010. Isolation and Characterization of Starch from Moth Bean. *African Journal of Food Science and Technology (ISSN: 2141-5455)* 3: 068-070.

- Cheng Y, M Tsai, K Tseng 1996. Effect of amylose content on the rheological property of rice starch. *Cereal Chemistry* 73(4):415-420.
- Chevion M, T Navok, G Glaser, J Mager 1982. The chemistry of favism-inducing compounds. The properties of isouramil and divicine and their reaction with glutathione. *European Journal of Biochemistry*. 127:405-409.
- Chin-Lin H, C Wenlung, W Yih-Ming, T Chin-Yin 2003. Chemical composition, physical properties, and antioxidant activities of yam flours as affected by different drying methods. *Food Chemistry*. 83: 85-92.
- Chung Hyun-Jung, Liu Qiang, Donner E, Hoover R, Warkentin T D, Vandenberg B 2008. Composition, Molecular Structure, Properties, and In Vitro Digestibility of Starches from Newly Released Canadian Pulse Cultivars. *Cereal Chemistry*. ProQuest Science Technology Collection 85(4):471.
- CIE International Commission on Illumination 1978. Recommendations on Uniform Color Spaces, Color-Difference Equations, Psychometric Color Terms, Supplement No. 2 to CIE Publication No. 15, Colorimetry, 1971 and 1978.
- Colonna P, A Buleon, C Mercier 1981. Pisum sativum and Vicia faba Carbohydrates: Structural Studies of Starches. *Journal of Food Science* 46: 88–93.
- Colonna P, M Champ 1990. Significance of starch damage in feeds. *Sciences des aliments* 10: 877–897.
- Comer F W, M K Fry 1978. Purification, Modification, and Properties of Air-Classified Pea Starch. *Cereal Chemistry* 55 (6):818-829.
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad 2012. Portal de Geoinformación, Estado de Puebla. Municipios: Tlachichuca y Quecholac.
- Commuri P D, P L Keeling 2001. Chain-length specificities of maize starch synthase I enzyme: studies of glucan affinity and catalytic properties. *Plant Journal* 25:475–86.

- Cooke D, M J Gidley 1992. Loss of crystalline and molecular order during starch gelatinisation: origin of the enthalpic transition. *Carbohydrate Research* 227: 103–112.
- Cowie J M G, C T Greenwood 1957. Physicochemical studies on starches part VI: aqueous leaching and the fractionation of potato starch. *Journal of the Chemical Society* 559: 2862–2866.
- Craig S A S, Maningat C C, Seib P A, Hoseney R C 1989. Starch paste clarity. *Cereal Chemistry*, 66: 173–182.
- Cronquist A 1981. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press, N Y, EEUU 1262.
- Cubero J I 1974. On the evolution of *Vicia faba* L. *Theoretical and Applied Genetics* 45:47-51.
- Czukor B, T Bogracheva, Z Cserhalmi, J Fornal, I Schuster- Gajza'go', E T Kovacs, G Lewandowicz, M Soral-Smietana 2001. Processing. In *Carbohydrates in Grain Legume Seed; Improving Nutritional Quality and Agronomic Characteristics* 89–116. Wallingford: CAB International.
- Czuchajowska Z, T Otto, B Paszczynska, & B Baik 2003. Composition, thermal behavior, and gel texture of prime and tailings starches from garbanzo beans and peas. *Cereal Chemistry* 75(4): 466–472.
- Davies C, Muirhead H 2002. Crystal structure of phosphoglucose isomerase from pig muscle and its complex with 5-phosphoarabinonate. *Proteins* 49:577–79.
- Dauville'e D, C Colleoni, E Shaw, G Mouille, C D'Hulst, M Morell, M S Samuel, B Bouchet, D J Gallant, A Sinsky, S Ball 1999. Novel, starch-like polysaccharides are synthesized by an unbound form of granule-bound starch synthase in glycogen-accumulating mutants of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiology* 119: 321–330.
- Denyer K, CM Hylton, CF Jenner, AM Smith 1995. Identification of multiple isoforms of soluble and granule bound starch synthase in developing wheat endosperm. *Planta* 196:256–65.

- Denyer K, P Johnson, S Zeeman, AM Smith 2001. The control of amylose synthesis. *Journal of Plant Physiology* 158:479 – 87.
- Derbyshire E, D J Wright, D Boulter 1976. Review Legumin and vicilin, storage proteins of legume seeds, *Phytochemistry* 15: 3 – 24.
- Deschamps P, I Haferkamp, C D’Hulst, HE Neuhaus, SG Ball 2008b. The relocation of starch metabolism to chloroplasts: when, why and how. *Trends Plant Science*. 13:574–82.
- Díaz-Bautista M, Herrera-Cabrera B E, Ramírez-Juárez J, Aliphat-Fernández M y Delgado-Alvarado A 2008. Conocimiento campesino en la selección de variedades de haba (*Vicia faba* L.) en la Sierra Norte de Puebla México. *Interciencia*. 33:610 – 615.
- Dostalova J, M Zatopkova, L Borovickova, M Skulinova, H Valentova, J Pokorny, V Hosnedl, P Kadlec 2001. Possibilities of higher utilization of grain legumes in human nutrition. In *Proceedings of the 4th European Conference on Grain Legumes, Cracow, Poland, 8–12 July* [AEP, editor]. Paris: AEP Editions 415
- Duc G 1997. Faba bean (*Vicia faba* L.) *Field Crops Research* 53: 99-109.
- Englyst HN, Cummings JH 1986. Digestion of the carbohydrates of banana (*Musa paradisiaca sapientum*) in the human small intestine. *American Journal of Clinical Nutrition*. 44:42-50.
- Englyst H N, J H Cummings 1987. Digestion of polysaccharides of potato in the small intestine of man. *American Journal of Clinical Nutrition* 45: 423-431.
- Englyst H N, J H Cummings 1988. Improved method for measurement of dietary fibre as non-starch polysaccharides in plant foods. *Journal of AOAC International* 71: 808-814.
- Faisant N, A Buleon, P Colonna, C Molis, S Lartigue, J P Galmiche, and M Champ 1995. Digestion of raw banana starch in the small intestine of healthy humans: Structural features of resistant starch. *British Journal of Nutrition* 73: 111–123

- FAO 1988. Soil map of the world. Revised legend, by FAO–UNESCO–ISRIC. World Soil Resources Report No. 60. Rome.
- FAOSTAT 2001. Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAO Database. Roma, Italy.
- FAOSTAT 2008. Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAO Database. Roma, Italy.
- Fettke J, M Hejazi, Smirnova J, E Höchel, M Stage, M Steup 2009. Eukaryotic starch degradation: integration of plastidial and cytosolic pathways. *Journal Experimental Botany* 60:2907–22.
- Finn RD, Mistry J, Schuster-Böckler B, Griffiths-Jones S, Hollich V, et al 2008. Pfam: clans, web tools and services. *Nucleic Acids Resource* 34:247–51
- Fleche G 1985. Chemical Modification and Degradation of Starch. En: *Starch Conversion Technology*, (G. M. Van Beynum y J. A. Roel, eds.) Marcel Dekker Inc, New York, USA 73-87.
- Fuentes-Herrera P 2016. Valor nutritivo y nutracéutico de colectas de haba (*Vicia Faba* L.) de los principales Estados productores de México. Maestría en Ciencias, Estrategias para el desarrollo agrícola regional. Colegio de Postgraduados, Campus Puebla.
- Funke U, G Lindhauer 1994. Eigenschaften von Gießfilmen aus native und chemisch modifizierten Stärken, *starch/stärke* 46: 384-388.
- Gani A, S S Haq, F A Masoodi, A A Broadway, A Gani 2010. Physico-chemical, Morphological and Pasting Properties of Starches Extracted from Water Chestnuts (*Trapa natans*) from Three Lakes of Kashmir, India 53(3): 733.
- Gibson T S, V A Solah, B V McCleary 1996. A procedure to measure amylose in cereal starches and flours with Con A. *Journal Cereal Science* 25: 111-119.

- Giczewska A, J Borowska 2004. Nutritional value of broad bean seeds. Part 3: Changes of dietary fibre and starch in the production of commercial flours. *Nahrung/Food* 48 2: 116– 122.
- Glawischnig E, A Gierl, A Tomas, A Bacher, W Eisenreich 2002. Starch biosynthesis and intermediary metabolism in maize kernels. Quantitative analysis of metabolite flux by nuclear magnetic resonance. *Plant Physiology* 130:1717–27
- Gott B, H Barton, D Samuel, R Torrence 2006. Biology of starch. R. Torrence y H. Barton (eds.), *Ancient Starch Research* 35-45.
- Granfeldt Y, I Björck, A Drews A, J Tovar 1992. An in vitro procedure based on chewing to predict metabolic response to starch in cereal and legume products. *European Journal of Clinical Nutrition* 46: 649–660.
- Guillon F, M M J Champ 2002. Carbohydrate fractions of legumes: uses in human nutrition and potential for health URPOI & UFDNH, National Institute for Agronomic Research (INRA) *British Journal of Nutrition*. 88. Suppl. 3: S293–S306
- Guyton A C, J E Hall 2006. *Tratado de Fisiología Médica*. 11 ed. S.A Elsevier, España.
- Haase N U, Shi H L 2006. A Characterization of Faba Bean Starch (*Vicia faba* L.). *Starch/Stärke*. 43: 205-208.
- Hanelt P 1972. Die infraspezifische variabilität von *Vicia faba* und ihre gliederung. *Kulturpflanze*. 20: 276-284
- Hernández-Medina M, J G Torruco-Uco, L Chel-Guerrero, D Betancur-Ancona 2008. Caracterización físico-química de almidones de tubérculos cultivados en Yucatán, México. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 28(3): 718-726.
- Herrera-Saldaña R E, and J T Huber 1989. Influence of varying protein and starch degradabilities on performance of lactating cow. *Journal Dairy Science*. 72:1477-1483.
- Herrera B, R Díaz, F Castillo, M López 2002. Diversidad genética de haba en la Mesa Central de México. In: Solórzano VE, Barrales DJS, Marroquín ALM, López RJ de J, Ayala S. (eds).

Primer congreso nacional sobre el cultivo del haba (CD-ROM). Universidad Autónoma Chapingo Dpto. de Fitotecnia. Chapingo, México. 11-12 de septiembre. (ISBN 968-884-855-7) 1-7.

Herrera C B E, R R Díaz, F González, A A Delgado 2006. Diversidad genética y valor agronómico de haba en la región central de México. Informe Técnico, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT). Colegio de Postgraduados - Campus Puebla. Puebla, México. 96.

Hildebrandt L A, J A Marlett 1991. Starch bioavailability in the upper gastrointestinal tract of colectomized rats. *Journal of Nutrition* 121: 679–686.

Holden K 2013. Fava Beans, Levodopa, and Parkinson's Disease. Retrieved Sep 30.

Hoover R, T Hughes, H J Chung, Q Liu 2010. Composition, molecular structure, properties, and modification of pulse starches: A review. *Food Research International* 43 (329): 413.

Hussain P R, I A Wani, P P Suradkar, M A Dar 2014. Gamma irradiation induced modification of bean polysaccharides: Impact on physicochemical, morphological and antioxidant properties. *Carbohydrate Polymers* 110:183–194.

IICA-Prociandino 1995. Experiencias en el cultivo de maíz en el Área Andina. Ed. Prociandino. Quito, Ecuador 3: 47.

Imberty A, S Pérez 1998. A revisit to the three-dimensional structure of B-type starch. *Biopolymers* 27: 1205–1221.

Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI) 1997. Cultivos anuales de México. VII Censo Agropecuario 231-237.

Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI) 2010. Compendio de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos, Tlachichuca, Chalchicolumula de Sesma, Puebla 2 – 10.

- Jane J L, T Kasemsuwan, S Leas, I Ames, H F Zobel, *et al.* 1994. Anthology of starch granule morphology by scanning electron microscopy. *Starch - Starke* 46:121–29.
- Jiménez P JR 2005. En diálogo con José R. Oliver y Reniel Rodríguez Ramos. La emergencia de la temprana producción de vegetales en nuestros esquemas investigativos (mentales) y algunos fundamentos metodológicos del estudio de almidones. *Diálogo Antropológico*. 3 (10): 49-55.
- Jenkins D J A, Wolever T M, Taylor R H, Barker H, Fielden H, Baldwin J M, Bowling A C, Newman HC, Jenkins A L y Goff D V1981. Glycemic index of foods: a physiological basis for carbohydrate exchange. *American Journal of Clinical Nutrition*, 34(3): 362–366.
- Jin X, Ballicora MA, Preiss J, Geiger JH 2005. Crystal structure of potato tuber ADP-glucose pyrophosphorylase. *EMBO Journal* 24:294–704.
- Jones RGM, D A Jones, C Hedley 1998. Partitioning of carbon into starch and soluble carbohydrates during the development and maturation of pea seeds. In *Proceedings of the 3rd European Conference on Grain Legumes*, Valladolid, Spain, 14– 19 November. [AEP, editors]. Paris: AEP Editions. 76–77
- Kabir M, M Guerre-Millo, M Laromiguière, G Slama, S W Rizkalla 2000. Negative regulation of leptin by chronic highglycemic index starch diet. *Metabolism* 49: 764–769.
- Kammerer B, Fischer K, Hilpert B, Schubert S, Gutensohn M, *et al.* 1998. Molecular characterization of a carbon transporter in plastids from heterotrophic tissues: The glucose 6-phosphate/phosphate antiporter. *Plant Cell* 10:105–18.
- Karkalis J 1985. An improved enzyme method for the determination of native and modified starch. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 36: 1019-1027.
- Katsuya Y, Y Mezaki, M Kubota, Y Matsuura 1998. Three-dimensional structure of *Pseudomonas* isoamylase at 2.2 °A resolution. *Journal Molecular Biology* 281:885–97

- Karkalis J 1985. An improved enzymic method for the determination of native and modified starch. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 36: 1019-1027.
- Keeling PL, J R Woods, R H Tyson, I G Bridges 1988. Starch biosynthesis in developing wheat grain: Evidence against the direct involvement of triose phosphates in the metabolic pathway. *Plant Physiology* 87:311–19.
- Keeling P L, A M Myers 2010. Biochemistry and Genetics of Starch Synthesis. *Annual Review of Food Science and Technology* 1:271–303.
- Klucinec JD, P L Keeling 2005. Genetic modifications of plant starches for food applications. In *Food Biotechnology*, ed. K Shetty, G Paliyath, A Pometto, RE Levine, Boca Raton, FL: CRC Press. 2nd ed. 675-708
- Kmiecik W, Z Lisiewska, P Gębczyński 1999. Content of amino acids in fresh and frozen and cooked broad bean seeds (*Vicia faba* var *major*) depending on cultivar and degree of maturity. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.79(4):555–560.
- Knudson K E B 1997. Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. *Animal Food Science Technology*. 67: 319-338.
- Kozłowska H, Z Zdunczyk, J Honke 1998. Legume grains for food and non food uses. In *Proceedings of the 3rd European Conference on Grain Legumes*, Valladolid, Spain, 14–19 November, Paris: AEP Editions.43–47.
- Kuser PR, Krauchenco S, Antunes OAC, Polikarpov I 2000. The high resolution crystal structure of yeast hexokinase PII with the correct primary sequence provides new insights into its mechanism of action. *Journal of Biological Chemistry*. 275:20814–20821.
- Kuriki T, D C Stewart, J Preiss 1997. Construction of chimeric enzymes out of maize endosperm branching enzymes I and II: Activity and properties. *Journal of Biological Chemistry* 272:28999–29004
- Lang V, F R Bornet, P Vaugelade, M van Ypersele de Strihou, J Luo, N Pacher, F Rossi, P La Droitte, P H Duee, G Slama 1999. Euglycemic hyperinsulinemic clamp to assess

- posthepatic glucose appearance after carbohydrate loading. 2. Evaluation of corn and mung bean starches in healthy men. *American Journal of Clinical Nutrition* 69: 1183–1188.
- Leach H W, McCowen L D and Schoch T J 1959. Structure of starch granule; I. Swelling and solubility patterns of various starches. *Cereal Chemistry* 36(6): 534-544.
- Lee H C, A K Htoon, J L Paterson 2007. Alkaline extraction of starch from Australian lentil cultivars Matilda and Digger optimised for starch yield and starch and protein quality. *Food Chemistry. Collaborative study. Journal AOAC International* 80: 571-579.
- Lehninger A L 2007. *Principios de Bioquímica. 4ª Edición. Editorial Omega. 20.*
- Leterrier M, Holappa L, Broglie K, Beckles DM 2008. Cloning, characterisation and comparative analysis of a starch synthase IV gene in wheat: functional and evolutionary implications. *BMC Plant Biology* 8:98.
- Liu Y, Ray WJ, Baranidharan S 1997. Structure of rabbit muscle phosphoglucomutase refined at 2.4 °A resolution. *Acta Crystallography (Database issue)* D53:392–405.
- Liu J, Mushegian A 2003. Three monophyletic superfamilies account for the majority of the known glycosyltransferases. *Protein Science* 12:1418–31
- LMC International Ltd 2002. *Evaluation of the Community Policy for Starch and Starch Products. Prepared for: European Commission – DG Agriculture. E1 –E3, 1-14.*
- López Bermúdez F 2001. *El riesgo de desertificación en Agricultura y Desertificación. (Martín de Santa Olalla, ed.). Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. 15-38.*
- López R M, M E G Guadarrama, B I Medina, C M Villavicencio 2011. *Usos alternativos del cultivo de haba. Folleto, Instituto de Investigación y Capacitación Agropecuaria, Acuícola y Forestal del Estado de México. Conjunto SEDAGRO, Metepec, México. 2-3.*

- Lorenz E N 1979. Forced and Free Variations of Weather and Climate. Department of Meteorology. Massachusetts Institute of Technology. Journal of the Atmospheric Sciences. 36(8):1367-1368.
- Lorenz K, F Collins 1979. The Starch of the Fababean (*Vicia faba*). Starch/Starke 31 Nr. 6, S. 181-184.
- Lovedeep K, S Narpinder, S S Navedeep 2002. Some properties of potatoes and their starches. II Morphological, thermal, and rheological properties of starches. Food Chemistry 79: 183-192.
- Luallen T E 1985. Starch as a functional ingredient. Food Technology 39(1):59-63.
- Lunt J, Shafer A L 2000. Polylactic acid polymers from corn: applications in the textiles industry. Journal of Industrial Textiles 29, 191-205.
- Mabon T J 1993. Color measurement of food. Cereal Foods World 38: 21-25.
- MacAllister R V 1979. Nutritive sweeteners made from starch. Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry. Academic Press, Inc. New York USA. 15-56.
- Mager J, M Chevion, G Glasser 1980. Favism. In: L. J. Liener (ed.), Toxic Constituents of Plant Foodstuff, Academic Press, New York. 265-294.
- Medina J A, J C Salas 2007. Morphological Characterization of Native Starch Granule: Appearance, Shape, Size and its Distribution. Revista de ingeniería. Universidad de los Andes. Bogotá, Colombia (ISSN. 0121-4993) 27: 57-58.
- Megazyme International Ireland Limited 2011. Total Starch Assay Procedure. Amyloglucosidasa / α -amilase Method. K-Tsta 07-11.
- Megazyme International Ireland Limited 2011. Resistant Starch Assay Procedure. AOAC Method 2002.02 AACC Method 32-40. K-Rstar 08-11.
- Megazyme International Ireland 2011. Amylose /Amylopectin. For the measurement of the Amylose and amylopectin Contents of starch. K-Amyl 07-11.

- McCleary B V, V Solah, T S Gibson 1994. Quantitative measurement of total starch in cereal flours and products. *Journal of Cereal Science* 20: 51-58.
- McCleary B V, D A Monaghan 2002. Measurement of resistant starch. *Journal of AOAC International* 85: 665-675.
- McCleary B V, M McNally, P Rossiter 2002. Measurement of resistant starch by enzymic digestion in starch samples and selected plant materials: Collaborative Study. *Journal of AOAC International*. 85: 1103-1111. Colombia, Santafé de Bogotá.171 *Revista Colombiana De Química* 30 (2).
- McCleary B V and A Draga 2009. unpublished.
- McGregor S E 1976. Insect pollination of cultivated crop plants. USDA
- Mittermeier, R, C Goettsch 1992. La importancia de la biodiversidad biológica de México. En: Sarukhán, J. y R. Dirzo (comps.). México ante los retos de la biodiversidad. Conabio, México.
- Mizra O, Guan L, Verner G, Iwata S, Kaback HR 2006. Structural evidence for induced fit and a mechanism for sugar/H⁺symport in LacY. *EMBO Journal*. 25:1177–83
- Montignac M (2014) Factores que modifican el Índice Glucémico; Fisiología de la absorción intestinal. <http://www.montignac.com/es/factores-que-modifican-el-ig/>. Junio 11.
- Molis C, M Champ, B Flourie, P Pellier, F Bornet, P Colonna, F Kozlowski, J-C Rambaud, And J Galmiche 1992. Small intestinal digestibility of processed corn starches in healthy human subjects. *European Journal of Clinical Nutrition*. 46:S131-S132.
- Montreuil J, Spik G, Fournet B, Toillier T 1997. Nonenzymatic determination of carbohydrates. En Multon L. *Analysys if Good Contituents*. Edit. Wiley-VCH. USA.
- Morales R E, de la O H Ávila, R A Morales, V M de la Cruz 2002. Evaluación de cinco genotipos de haba (*Vicia faba* L) con seis niveles de fósforo en Tecámac, México. *Ciencia Ergo Sum* 9(2): 184–189.

- Morrison W R, B Laignet 1983. An improved colorimetric procedure for determining apparent and total amylose in cereal and other starches. *Journal of Cereal Science* 1: 9-20.
- Muratova V 1931. Common bean, *Vicia faba*. *Bulletin of Applied Botany Genetics and Plant Breeding*. Supplement 50:248- 285.
- Naivikul O, B L D'Appolonia 1978. Comparison of Legume and Wheat Flour Carbohydrates. 1. Sugar Analysis. *Cereal Chemistry* 55 (6): 913-918.
- Nakamura I N, E K Park 1975. Some physico-chemical properties of fermented cassava starch (polvilho azedo). *Die Stärke, Weinheim* 27(9):295-297.
- Narváez-González E D, J D C Figueroa, T Suketoshi, E T Castaño, R M P Álvar 2007. Efecto del tamaño del gránulo de almidón de maíz en sus propiedades térmicas y de pastificado. *Fitotecnia Mexicana*. 30 (3): 269 – 277.
- Noah L, F Guillon, B Bouchet, A Buleón, C Molis, M Gratas, M Champ 1998 Digestion of carbohydrate from white beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in healthy humans. *Journal of Nutrition* 128: 977–985.
- Olsen O A 2001. Endosperm development: cellularization and cell fate specification. *Annual Review. Plant Physiology. Plant Molecular Biology*. 52:233–67
- Ovando-Martinez M, L A Bello-Pérez, K Whitney, P Osorio-Díaz, S Simsek 2011. Starch characteristics of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) grown in different localities. *Carbohydrate Polymers* 85: 54 – 64.
- Patron NJ, B Greber, B F Fahy, D A Laurie, M L Parker 2004. The lys5 mutations of barley reveal the nature and importance of plastidial ADP-Glc transporters for starch synthesis in cereal endosperm. *Plant Physiology*. 135:2088–97.
- Phillips R, Rix R 1993. *Vegetables*. Pan Books, London.
- Pichardo-Riego J C, J A S Escalante-Estrada, R Díaz-Ruiz, A Quevedo-Nolasco, V Volke-Haller, E J Morales-Rosales 2013. Rendimiento y eficiencia en el uso del agua de cultivares de

- haba (*Vicia faba* L.) para doble propósito. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 19(1): 71-84.
- Ramírez T A, N J M Sánchez, C A García 2004. El Desarrollo Sustentable: Interpretación y Análisis. *Revista del Centro de Investigación. Universidad La Salle (En línea)*, vol. 6, julio-diciembre, Pp. 55-59, Distrito Federal, México.
- Roach P J 2002. Glycogen and its metabolism. *Current Molecular Medicine* 2: 101–120.
- Ruales J, S Valencia, B Nair 1993. Effect of processing on the physico-chemical characteristics of quinoa flour (*Chenopodium quinoa*, Willd.) *Starch/Stärke* 45:13-19.
- Sáenz de M, L Carnicer 2010. Las vicilinas, una lección sobre evolución. *AmbioCiencias – Revista de Divulgación Científica. Universidad de León, España*. 6: 44,53-54.
- Sajilinata M G, R S Singhal, P R Kulkarni 2006. Resistant starch –a review, comprehensive *Reviews in Food Science and Food Safety* 5:1-17.
- Salinas Moreno Y, Herrera Corredor J.A, Castillo Merino J. y Pérez Herrera. P 2003. Cambios físico-químicos del almidón durante la nixtamalización del maíz en variedades con diferente dureza de grano. CEVAMEX. , Departamento de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Autónoma Chapingo – México. *ALAN* 53(2).
- Sahasrabudhe M R, J R Quinn, D Patron, C G Youngs, B J Skura 1981. Chemical composition of white bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and functional characteristics of its air-classified protein and starch fractions. *Journal of Food Science* 46: 1079–1081.
- Sánchez T, J A Marín, D L Dufour, N Morante, H Ceballos 2008. Caracterización fisicoquímica del primer almidón natural de yuca ceroso (libre de amilosa) descubierto en CIAT [poster] [en línea]. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, CO. 1.
- Sandhu K S, S Lim 2008. Digestibility of legume starches as influenced by their physical and structural properties. *Carbohydrate Polymers*. 71: 245–252.

- Schoch T J 1942. Fractionation of starch by selective precipitation with butanol. *Journal of the American Chemical Society*. 64: 2957 – 2961.
- Seewi G, G Gnauck, R Stute, E Chantelau 1999. Effects on parameters of glucose homeostasis in healthy humans from ingestion of leguminous versus maize starches. *European Journal of Nutrition* 38: 183–189.
- Seetharaman K, A Tziotis, F Borrás, P J White, M Ferrer, J Robutti 2001. Thermal and functional characterization of starch from Argentinean corn. *Cereal Chemistry*. 78:379-386.
- Servicio de Información Agroalimentario y Pesquero 2013. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. México.
- Silva C L, Osorio D P, Bello P L A 2007. Digestibilidad del almidón en haba (*Vicia faba* L.). Centro de Desarrollo de Productos Bióticos del IPN, Yautepec, Morelos, México. *Agrociencia* 41: 845-852.
- Sofi B A, I A Wani, F A Masoodi, I Saba, S Muzaffar 2013. Effect of gamma irradiation on physicochemical properties of broad bean (*Vicia faba* L.) starch. *LWT— Food Science and Technology*. 54: 63–72.
- Soral-Śmietana M, G Lewandowicz, M Wronkowska 2001a. Pea starch: the material for resistant starch (RS3). In *Proceedings of the 4th European Conference on Grain Legumes*, Cracow, Poland, 8–12 July, Paris: AEP Editions. 104–105.
- Shannon JC, Pien FM, Cao HP, Liu KC 1998. Brittle-1, an adenylate translocator, facilitates transfer of extraplastidial synthesized ADP-glucose into amyloplasts of maize endosperms. *Plant Physiology* 117:1235– 52.
- Smith AM, SC Zeeman, SM Smith 2005. Starch degradation. *Annual Review Plant Biology* 56:73–98.
- Stone L A, K Lorenz, F Collins 1984. The starch of amaranths. Physico-chemical properties and functional characteristics. *Starch/Stärke* 36:232-237.

- Sullivan TD, Strelow LI, Illingworth CA, Phillips RL, Nelson OE Jr 1991. Analysis of maize brittle-1 alleles and a defective suppressor-mutator-induced mutable allele. *Plant Cell* 3:1337–48.
- Sulpice R, ET Pyl, H Ishihara, S Trenkamp, M Steinfath, *et al* 2009. Starch as a major integrator in the regulation of plant growth. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 106:10348–53.
- Suzuki M, Chatterton N J 1993. *Science and Technology of Fructans*, CRC Press. (ISBN 0-8493-5111-1) 28-29.
- Swinkels J J M 1985. Sources of starch, Its Chemistry and Physic. In: *Starch Conversion Technology*. New York: Marcel Dekker. 15-46.
- Szukala J, P Gulewicz, K Gulewicz 2001. Evaluation of influence of agricultural factors on α -galactosides biosynthesis in faba bean seeds. In *Proceedings of the 4th European Conference on Grain Legumes*, Cracow, Poland, 8–12 July, Paris: AEP Editions. 368–369.
- Tester R F, J Karkalas, X. Qi 2004. Starch–composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science* 39: 151–165.
- Tetlow I J 2011. Starch biosynthesis in developing seeds. *Seed Science Research* 21: 5–32.
- Tharanathan R N, S Mahadevamma 2003. Grain legumes – A boon to human nutrition. *Trends in Food Science and Technology* 14: 507–518.
- Theander O, O Aman 1979. Studies on dietary fibers. 1. Analysis and chemical characterization of water-soluble and water-insoluble dietary fibers. *Swedish journal of agricultural research* 9: 97-106.
- Thomas D J, W A Atwell 1999. *Starches*. Eagan Press. St. Paul, Minesotta. USA. (ISBN 0-891127-01-2) 1-94.

- Tjaden J, I Haferkamp, B Boxma, AGM Tielens, MA Huynen, *et al.* 2004. A divergent ADP/ATP carrier in the hydrogenosomes of *Trichomonas gallinae* argues for an independent origin of these organelles. *Molecular Microbiology*. 51:1439–46.
- Tovar J, Björck IM, Asp N-G 1992. Incomplete digestion of legume starches in rats: a study of precooked flours containing retrograded and physically inaccessible starch fractions. *Journal of Nutrition*. 122: 1500-1507.
- Tovar J 1996. Bioavailability of carbohydrates in legumes: digestible and indigestible fractions. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion* 44, Suppl. 1: 36S–40S
- Vaclavik V A 2002. *Fundamentos de ciencia de los alimentos*. Acribia Editorial, ISBN 9788420009766.
- Van Der Bij J 1976. The analysis of starch derivatives. In: *Examination and Analysis of Starch*. Radley, pp: 189-213.
- Van der Meulen J, J G Bakker, B Smits, H de Visser 1997. Effects of source of starch on net portal flux of glucose, lactate, volatile fatty acids and amino acids in the pig. *British Journal of Nutrition* 78: 533–544.
- Van Laar H, S Tamminga, B A Williams, M W A Verstegen, M Engels 1999. Fermentation characteristics of cell-wall sugars from soya bean meal, and from separated endosperm and hulls of soya beans. *Animal Feed Science and Technology* 79: 179–193.
- Vose J R 1980. Production and Functionality of Starches and Protein Isolates from legumes Seeds (Field Peas and Horsebeans). *Cereal Chemistry*. 57 (6) :406-410.
- Wani, I. A., Sogi, D. S., Wani, A. A., Gill, B. S., Shivhare 2010. Physico-chemical properties of starches from Indian kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) cultivars. *International Journal of Food Science & Technology*. 45: 2176–2185.
- Weightman R M, C M G C Renard, J F Thibault 1994. Structure and properties of the polysaccharides from pea hulls. I: Chemical extraction and fractionation of the polysaccharides. *Carbohydrate Polymers* 24: 139–148.

- Whistler R L, J BeMiller, E F Paschall 1984. Starch Chemistry and Technology, Academic Inc., New York.
- Witham F H, D F Blaydes, R M Devlin 1971. Experiments in plant physiology. Van Nostrand Reinhold Company. New York. 16-18.
- Würsch PS Del Vedovo, and B Koellreuter 1986. Cell structure and starch nature as key determinants of the digestion rate of starch in legumes. American Journal of Clinical Nutrition 43: 25-29.
- Yoldi M 2001. La Producción de Haba en Nuestro País. Claridades Agropecuarias. ASERCA. 4,5.
- Yun S H, N K Matheson 1990. Starch/Starke 42: 302-305.
- Zajac P 1989. Almidón de maíz, obtención y utilización. Cuba: Editorial Científico, Técnica. 92-113.
- Zhang T, B Jiang, Z Wang 2007. Gelation properties of chickpea protein isolates. Food Hydrocolloids. 21: 280–286.
- Zhao J, R L Wistler 1994. Spherical aggregates of starch granules as flavor carriers. Food Technology. 48(7): 104-105
- Zobel H F 1992. Starch granule structure, In: Developments in Carbohydrate Chemistry. Eds. R. Alexander and H.F. Zobel. The American Association of Cereal Chemistry, St. Paul, MN. 1–36.

VIII. ANEXOS

Cuadro 1A Condiciones climáticas durante la temporada de siembra (de marzo a noviembre) del 2007 en Tlachichuca y Zoapan para el análisis del factor ambiente.

Precipitaciones acumuladas mensuales										
Localidad	mar	abril	mayo	junio	julio	agosto	sept	oct	Nov	P.Acom
Tlachichuca	9.8	37.5	74	67	81	126	82	44	8	529.3
Zoapan	10	37.5	107.5	70	102	182	95	50	8	662

Temperaturas máximas mensuales										
Localidad	mar	abr	mayo	junio	julio	agosto	sept	oct	Nov	
Tlachichuca	25.6	25	25.2	24.8	23.4	23	22.6	21.7	22.8	
Zoapan	25.6	25.2	25.6	24.8	23.4	23	22.8	21.8	22.8	

Temperaturas mínimas										
Localidad	mar	abril	mayo	junio	julio	agosto	sept	oct	Nov	
Tlachichuca	1.6	6	6.4	6	6.4	6.6	6.2	3.8	1.0	
Zoapan	0.6	4.8	5.6	4.8	5.4	5.2	5	1.8	0.5	

Temperaturas medias										
Localidad	mar	abril	mayo	junio	julio	agosto	sept	oct	Nov	
Tlachichuca	13	14.6	15	15.4	14.4	13.3	13.4	12	11.4	
Zoapan	12.8	14.8	15	15.4	15	13.4	13.2	12	11.4	

Fuente:Elaborado por Gisela Salamanca Bautista con datos obtenidos a partir de estaciones registradas en INIFAP Y SMN (interpolaciones calculadas en SPSS 20.0, e isolíneas realizadas en ARC MAP 10.1).

Cuadro 2A Condiciones climáticas de la temporada de siembra (marzo a noviembre) de la localidad de San Cayetano en los años 2006, 2011, y 2012, para el análisis del factor año de cosecha.

Precipitaciones acumuladas mensuales (mm)											
Localidad	Año	mar	abril	mayo	junio	julio	agosto	sept	oct	nov	P.Acom
San Cayetano	2006	7	45.5	155.2	108.5	143	107	53	50	25	694.2
San Cayetano	2011	23.8	39.8	122.5	113.6	147	151.5	74.5	5.5	7.2	685.4
San Cayetano	2012	8	49	44	77	64	112.5	91	65	0	510.5

Temperaturas máximas mensuales (°C)											
Localidad	Año	mar	abril	mayo	junio	julio	agosto	sept	oct	nov	
San Cayetano	2006	34	36.1	27	33.2	24	28	26.4	33.7	23.5	
San Cayetano	2011	31.4	33.4	26.2	32.5	24.4	26.2	30.3	29	25.4	
San Cayetano	2012	27.5	26.8	33	26.6	29.1	21.8	26	27.4	26.4	

Temperaturas mínimas (°C)											
Localidad	Año	mar	abril	mayo	junio	julio	agosto	sept	oct	nov	
San Cayetano	2006	1	4.1	4.2	5.2	5.5	5.8	6.5	0.8	0	
San Cayetano	2011	-1.5	3.8	3.5	5.2	6	6.2	4.9	1.6	-1.5	
San Cayetano	2012	1.6	4.9	5.2	6.2	6	4.8	4.8	-3	-0.8	

Temperaturas medias (°C)											
Localidad	Año	mar	abril	mayo	junio	julio	agosto	sept	oct	nov	
San Cayetano	2006	15.8	17	15.8	18	18.3	16.4	16	14.6	15.3	
San Cayetano	2011	14.8	16.4	17	16.5	15.3	17	15	12.3	11.1	
San Cayetano	2012	14.2	15.8	16.9	17.4	15.9	16.6	14.6	14.6	14.9	

Fuente: Elaborado por Gisela Salamanca Bautista con datos obtenidos a partir de estaciones registradas en INIFAP Y SMN (interpolaciones calculadas en SPSS 20.0, e isólineas realizadas en ARC MAP 10.1).

Cuadro 3A Condiciones climáticas en la temporada de siembra (marzo a noviembre) en las localidades de Tlachichuca 2007, y San Cayetano 2011, para el análisis del factor cultivar.

Precipitaciones acumuladas mensuales (mm)										
Localidad	mar	abril	mayo	junio	julio	agosto	Sept	oct	nov	P.Acom
Tlachichuca 2007	9.8	37.5	74	67	81	126	82	44	8	529.3
San Cayetano 2011	23.8	39.8	122.5	113.6	147	151.5	74.5	5.5	7.2	685.4
Temperaturas máximas (°C)										
Localidad	mar	abril	mayo	junio	julio	agosto	Sept	oct	nov	
Tlachichuca 2007	25.6	25	25.2	24.8	23.4	23	22.6	21.7	22.8	
San Cayetano 2011	31.4	33.4	26.2	32.5	24.4	26.2	30.3	29	25.4	
Temperaturas mínimas (°C)										
Localidad	mar	abril	mayo	junio	julio	agosto	Sept	oct	nov	
Tlachichuca 2007	1.6	6	6.4	6	6.4	6.6	6.2	3.8	0.8	
San Cayetano 2011	-1.5	3.8	3.5	5.2	6	6.2	4.9	1.6	-1.5	
Temperaturas medias (°C)										
Localidad	mar	abril	mayo	junio	julio	agosto	Sept	oct	nov	
Tlachichuca 2007	13	14.6	15	15.4	14.4	13.3	13.4	12	11.4	
San Cayetano 2011	14.8	16.4	17	16.5	15.3	17	15	12.3	11.1	

Fuente: Elaborado por Gisela Salamanca Bautista con datos obtenidos a partir de estaciones registradas en INIFAP Y SMN (interpolaciones calculadas en SPSS 20.0, e isolíneas realizadas en ARC MAP 10.1).

Cuadro 4A Análisis de varianza de los análisis proximales sobre el almidón nativo de haba para el factor cultivar, en siete colectas de cinco cultivares (22Cb, 93Ca, 146Cm, 160Cb, 181Tp, 281Ta, 288Ta) tanto en Tlachichuca 2007, como en San Cayetano 2011.

Factor cultivar						
Variable	Gl	Media	Coeficientes de variación	Cuadrados de la media		
				Cultivar	Localidad	Error
Lípidos (%p.s.)	41	0.279	20.870	0.071 ***	0.117 ***	0.003
Azúcares solubles (%p.s.)	41	0.010	8.114	2.600E-06	2.080E-06	6.800E-07
Cenizas (%p.s.)	41	0.110	18.253	0.006 ***	0.011 ***	4.029E-04
Humedad (%)	41	11.196	15.195	33.778 ***	4.640	2.8939718
pH	41	8.143	5.049	0.181	0.024	0.003

*** Pr < 0.001, ** Pr < 0.01, * Pr < 0.05. El arreglo de todas las colectas analizadas se observan en el Cuadro 3.1. Las imágenes de los cultivares se observan en la Figura 1 A, Anexos. %p.s.= porcentaje de peso seco.

Cuadro 5A Análisis de varianza de los análisis proximales sobre el almidón nativo de haba para el factor ambiente, en dos cultivares (89Ta y 181Tp) en dos ambientes (Tlachichuca 2007, Zoapan 2007).

Factor ambiente							
Variable	Gl	Media	Coeficientes de variación	Cuadrados de la media			Error
				Colecta	Ambiente	Ambiente X Colecta	
Lípidos (%p.s.)	11	0.206	25.899	0.004	2.41E-04	0.095 ***	0.003
Azúcares solubles (%p.s.)	11	0.01	11.892	3.00E-08	1.045E-05 *	3.00E-08	1.30E-06
Cenizas (%p.s.)	11	0.082	5.168	0.043 ***	0.013 ***	0.013 ***	1289.62
Humedad (%)	11	10.17	13.036	5.434	0.689	14.730 *	1.758
pH	11	8.417	2.197	0.032	0.006	0.062	0.034

*** Pr < 0.001, ** Pr < 0.01, * Pr < 0.05. El arreglo de todas las colectas analizadas se observan en el Cuadro 3.1. Las imágenes de los cultivares se observan en la Figura 1 A, Anexos. %p.s. = porcentaje de peso seco.

Cuadro 6A Análisis de varianza de los análisis proximales sobre el almidón nativo de haba para el factor año de cosecha, en un cultivar (181Tp), una misma localidad (San Cayetano, Cd. Serdán), y tres años de cosecha (2006, 2011, 2012).

Factor año de cosecha					
Variable	Gl	Media	Coeficientes de variación	Cuadrados de la media	
				Año	Error
Lípidos (%p.s.)	8	0.451	8.950	0.222 ***	0.002
Azúcares solubles (%p.s.)	8	0.195	4.511	0.013 ***	7.744E-05
Cenizas (%p.s.)	8	0.011	4.407	2.111E-08	2.178E-07
Humedad (%)	8	10.440	17.039	2.168	3.164
pH	8	8.392	2.950	0.038	0.061

*** Pr < 0.001, ** Pr < 0.01, * Pr < 0.05. %p.s.= porcentaje de peso seco.

Cuadro 7A Contenidos de nitrógeno total en promedios de todos los cultivares utilizados en ésta investigación.

Cultivar-Localidad_año	N (%p.s.)	D. Estándar
146Cm-CY11	1.458	1.263
146Cm-TL07	0.729	1.263
160Cb-CY11	0.729	1.263
160Cb-TL07	0.729	1.263
181Tp-CY06	0.729	1.263
181Tp-CY11	0.000	0.000
181Tp-CY12	0.000	0.000
181Tp-TL07	0.729	1.263
181Tp-ZOA07	0.000	0.000
22Cb-CY11	1.458	1.263
22Cb-TL07	0.000	0.000
281Ta-CY11	0.729	1.263
281Ta-TL07	0.000	0.000
288Ta-CY11	0.000	0.000
288Ta-TL07	0.000	0.000
89Ta-TL07	0.000	0.000
89Ta-ZOA07	0.000	0.000
93Ca-CY11	2.188	0.000
93Ca-TL07	0.000	0.000

N = nitrógeno total, %p.s. = porcentaje de peso seco, TL07 = Tlachichuca 2007, CY11 = San Cayetano 2011, CY06 = San Cayetano 2006, CY12 = San Cayetano 2012, ZOA07 = Zoapan 2007.

Cuadro 8A Cifras significativas de pruebas no paramétricas para las dimensiones de los gránulos de almidón, para el factor cultivar, en siete cultivares (22Cb, 93Ca, 146Cm, 160Cb, 181Tp, 281Ta, 288Ta) tanto en Tlachichuca 2007, como en San Cayetano 2011, Puebla.

Factor cultivar		Significancia estimada	
Clase		Cultivar ¹	Localidad-año ¹
1	DM1	-	-
	Dm1	-	-
	A1(μm ²)	-	-
2	DM2	-	0.003 **
	Dm2	0.044 *	-
	A2(μm ²)	-	0.007 **
3	DM3	0.000 ***	-
	Dm3	0.002 **	-
	A3(μm ²)	0.000 ***	-
4	D4	-	-
	A4(μm ²)	-	-

Significancia = 0.05, - = no significativo, (p >=0.05). *** Pr < 0.001, ** Pr < 0.01, * Pr < 0.05. 1 = Prueba Mann-Whitney. 2= Prueba Kruskal-Wallis. DM = diámetro mayor, Dm = diámetro menor, D = diámetro en formas esféricas, A = área aproximada. El arreglo de las colectas analizadas se observan en el Cuadro 3.1. 1 = tamaño de gránulo de almidón mayor, 2, 3 = tamaños medios, 4 = tamaño más pequeño de gránulo. Las imágenes de los genotipos se observan en la Figura 1A, Anexos.

Cuadro 9A Cifras significativas de pruebas no paramétricas para las dimensiones de los gránulos de almidón, en función del ambiente, realizado en dos cultivares (89Ta y 181Tp) y dos ambientes (Tlachichuca 2007 y Zoapan 2007).

Factor ambiente		Significancia estimada		
		Colecta ¹	Ambiente ¹	Ambiente X Colecta ²
1	DM1	-	-	0.001 **
	Dm1	-	-	0.036 *
	A1(μm^2)	-	-	0.002 **
2	DM2	0.011 *	0.002 **	0.021 *
	Dm2	-	-	0.001 **
	A2(μm^2)	-	0.022 *	0.002 **
3	DM3	-	-	-
	Dm3	-	-	-
	A3(μm^2)	-	-	-
4	D4	-	-	-
	A4(μm^2)	-	-	-

Significancia = 0.05, - = no significativo, ($p \geq 0.05$). *** Pr < 0.001, ** Pr < 0.01, * Pr < 0.05, ¹ = Prueba Mann-Whitney. ² = Prueba Kruskal-Wallis, DM = diámetro mayor, Dm = diámetro menor, D = diámetro en formas esféricas, A = área aproximada. El arreglo de las colectas analizadas se observan en el cuadro 3.1. 1 = tamaño de gránulo de almidón mayor, 2, 3 = tamaños medios, 4 = tamaño más pequeño de gránulo. Las imágenes de los genotipos se observan en la figura 1 A, Anexos.

Cuadro 10A Cifras significativas de pruebas no paramétricas para las dimensiones de los gránulos de almidón, en función del año de cosecha, en un cultivar (181Tp), en tres años de cosecha (2006, 2011, 2012), en San Cayetano, Cd. Serdán Puebla.

Factor año	
Clase	Significancia estimada
	Año ²
1 DM1	-
Dm1	0.004 **
A1(μm ²)	0.045 *
2 DM2	0.019 *
Dm2	-
A2(μm ²)	-
3 DM3	0.005 **
Dm3	-
A3(μm ²)	0.034 *
4 D4	-
A4(μm ²)	-

Significancia = 0.05, - = no significativo, (p >=0.05). *** Pr < 0.001, ** Pr < 0.01, * Pr < 0.05, ²=Prueba Kruskal-Wallis.

Cuadro 11A Promedios de dimensiones de los gránulos observados por microscopía electrónica en todos los cultivares de habas.

Localidad	Col_Cv_A	DM1	Dm1	A1	DM2	Dm2	A2	DM3	Dm3	A3	D4	A4
CY	22Cb11	38.22	23.08	694.48	23.60	17.54	323.81	16.76	15.69	208.43	7.92	49.69
CY	93Ca11	38.03	25.38	758.86	27.53	18.63	403.11	19.63	17.23	263.70	7.67	46.51
CY	146Cm11	41.73	24.97	829.55	26.36	17.14	358.19	16.76	15.28	205.27	8.55	58.56
CY	160Cm11	39.13	24.99	769.54	26.50	18.50	384.77	19.34	15.37	234.96	9.20	66.80
CY	181Tp11	39.01	25.75	794.00	28.88	18.95	432.24	18.06	15.59	227.06	7.60	47.42
CY	281Ta11	40.03	27.53	867.74	25.50	17.36	347.93	19.71	16.34	254.75	7.79	48.14
CY	288Ta11	36.57	25.64	737.08	27.48	18.70	404.14	16.40	16.40	212.95	9.08	66.78
TL	22Cb07	37.98	23.12	697.80	33.33	17.21	456.38	15.72	12.55	153.99	8.86	64.99
TL	93Ca07	38.62	25.43	773.26	24.26	17.32	329.95	16.90	16.50	220.62	7.87	51.14
TL	146Cm07	37.09	25.60	755.23	25.25	18.62	370.21	25.25	18.62	370.21	7.96	51.27
TL	160Cm07	39.76	27.81	870.03	25.53	17.30	346.40	18.42	15.54	224.86	8.76	61.91
TL	181Tp07	39.65	27.54	877.05	25.35	17.53	347.56	16.89	15.25	204.03	8.71	63.15
TL	281Ta07	35.54	23.61	661.53	25.12	18.09	357.89	15.98	14.92	189.18	8.29	54.94
TL	288Ta07	37.78	22.80	677.66	24.24	18.11	346.52	16.40	14.99	194.98	7.68	46.91
CY	181TpY06	37.98	23.25	693.71	23.97	18.62	351.32	16.70	15.77	208.59	8.70	60.58
CY	181TpY12	38.81	28.19	859.38	27.09	17.95	381.53	21.50	16.96	287.29	9.29	70.26
TL	89TaL07	35.52	24.23	676.40	26.36	16.24	336.49	14.97	14.23	172.25	8.35	57.92
ZOA	89Ta07	42.39	29.76	999.65	28.86	20.26	459.46	19.15	16.30	245.44	9.32	69.15
ZOA	181Tp07	34.49	22.64	615.11	24.80	17.84	348.97	16.40	15.13	196.80	8.65	60.23

DM = diámetro mayor, Dm diámetro menor en ovalos, D = diámetro en esferas, unidades en micrómetros para los diámetros, y micrómetros cuadrados para las áreas (A), tamaños 1 a 4, siendo el 4 el tamaño menor. Col_Cv_A = Colecta, cultivar, año de cosecha.

Cuadro 12A Correlaciones con significancia entre variables de propiedades químicas del almidón y otras variables analizadas en laboratorio.

Correlación				
A	B	r	Pr	N
Almidón total	I. Absorción agua	0.5605	*	19
Almidón resistente	Claridad 0h	-0.6891	**	19
Almidón soluble	Claridad 72h	-0.5154	*	19
	I. Absorción agua	0.5768	*	19
Amilosa	Azúcares solubles	0.4668	*	19
	Claridad 0h	0.5071	*	19
Amilopectina	Azúcares solubles	-0.4668	*	19
	Claridad 0h	-0.5071	*	19
Ami./Amilopéc.	Azúcares solubles	0.4678	*	19
	Claridad 0h	0.5152	*	19

*** Pr < 0.001, ** Pr < 0.01, * Pr < 0.05. A = Variable 1, B = Variable 2, r = coeficiente de correlación Pearson, Pr = nivel de significancia, N = número de categorías relacionadas, 19 categorías de cultivares.

Cuadro 13A Correlaciones con significancia entre variables de análisis proximal del almidón y otras variables analizadas en laboratorio.

Correlación				
A	B	r	Pr	N
Humedad almidón	Claridad 24h	0.5667	*	19
Lípidos	Cenizas	0.4600	*	19
Azúcares solubles	I. Color Blancura	0.4886	*	19

*** Pr < 0.001, ** Pr < 0.01, * Pr < 0.05. A = Variable 1, B = Variable 2, r = coeficiente de correlación Pearson, Pr = nivel de significancia, N = número de categorías relacionadas, 19 categorías de cultivares.*** Pr < 0.001, ** Pr < 0.01, * Pr < 0.05

Cuadro 14A Correlaciones con significancia entre variables de propiedades funcionales del almidón y otras variables analizadas en laboratorio.

CORELACIÓN				
A	B	r	Pr	N
Claridad 72h	I. Absorción agua	-0.6515	*	19
	I. Color Blancura	0.5156	*	19
I. Absorción agua	Poder de hinchamiento	0.7137	**	13
	I. Color Blancura	-0.6329	*	13

*** Pr < 0.001, ** Pr < 0.01, * Pr < 0.05. A = Variable 1, B = Variable 2, r = coeficiente de correlación Pearson, Pr = nivel de significancia, N = número de categorías relacionadas, 19 categorías de cultivares.*** Pr < 0.001, ** Pr < 0.01, * Pr < 0.05

Cuadro 15A Correlaciones con significancia entre variables de índice de color del almidón.

CORELACIÓN				
A	B	r	Pr	N
I. Color ΔE	I. Color Blancura	-0.7120	***	19

*** Pr < 0.001, ** Pr < 0.01, * Pr < 0.05. A = Variable 1, B = Variable 2, r = coeficiente de correlación Pearson, Pr = nivel de significancia, N = número de categorías relacionadas, 19 categorías de cultivares.*** Pr < 0.001, ** Pr < 0.01, * Pr < 0.05

Cuadro 16A Promedios de 27 variables analizadas en 19 colectas (22, 89, 93, 146, 160, 181, 281, 288) de cinco cultivares de haba (Cb, Ca, Ta, Tp, Cm), cultivadas en distintas localidades y años (Tlachichuca 2007, San Cayetano 2006, 2011, 2012, y Zoapan 2007, Puebla, México).

	Características del grano					Rendimiento de almidón				Propiedades químicas del almidón			
	(mm)	(mm)	(mm)	(g)	(mL)	(%b.h.)	(%p.s.)	(%p.s.)	(%p.s.)	(%p.s.)	(%p.s.)	(%p.s.)	(%p.s.)
TRAT	LARGO	ANCHO	GROS	PESO*	VOL*	REN.B.H	REN_BS	AT_AL	AR	Al_SOL	AM	AMP	AM/AP
22CbTL07	20,87	14,63	7,42	137,71	126,75	32,60	35,43	74,83	6,22	73,91	23,05	76,95	0,30
22CbCY11	19,88	13,70	7,15	114,38	114,50	36,08	39,37	90,38	7,44	75,98	28,30	71,70	0,40
93CaTL07	22,89	16,17	7,48	179,58	171,25	32,61	37,05	91,82	5,22	76,18	21,46	78,54	0,27
93CaCY11	24,28	16,96	7,20	199,69	188,50	32,69	36,96	90,92	4,90	85,69	27,72	72,28	0,38
146CmTL07	21,36	15,66	7,46	158,35	148,50	32,79	35,47	76,76	4,76	84,89	27,40	72,60	0,38
146CmCY11	21,54	15,60	7,20	167,24	157,50	34,29	37,54	83,73	5,09	77,57	29,03	70,97	0,41
160CbTL07	23,45	16,55	7,64	199,12	188,75	34,40	37,60	83,92	5,04	80,20	22,71	77,29	0,29
160CbCY11	23,72	16,79	7,62	185,25	179,25	33,36	36,00	86,73	4,20	88,43	29,41	70,59	0,42
181TpTL07	23,98	17,16	7,64	207,84	193,25	36,01	39,25	78,42	3,28	76,79	29,08	70,92	0,41
181TpCY11	24,45	17,08	7,15	181,10	180,75	31,57	34,81	95,47	5,57	79,67	30,61	69,39	0,44
281TaTL07	25,14	17,56	7,40	205,54	199,75	26,77	28,74	79,32	5,32	77,55	26,10	73,90	0,35
281TaCY11	24,79	17,15	6,77	187,50	193,50	37,23	43,72	79,08	5,73	78,54	28,70	71,30	0,40
288TaTL07	27,80	19,39	7,40	242,11	240,25	28,33	30,61	78,13	6,45	83,67	22,51	77,49	0,29
288CY11	27,33	18,52	6,88	233,83	228,25	31,15	34,39	84,54	4,83	84,04	29,63	70,37	0,42
181TpCY06	25,42	17,11	7,41	194,46	185,50	35,20	38,41	101,36	5,07	75,58	29,19	70,81	0,41
181TpCY12	22,48	15,46	7,03	146,47	143,00	36,95	40,89	85,43	3,38	77,38	31,93	68,07	0,47
181TpZ07	25,03	17,37	7,65	219,83	210,75	33,81	36,97	83,53	5,98	85,63	27,44	72,56	0,38
89TaTL07	22,89	16,17	7,48	179,58	171,25	31,28	34,29	85,06	5,08	89,51	27,70	72,30	0,38
89TaZOA07	24,36	16,99	7,47	197,17	197,75	30,72	33,06	78,78	3,68	80,51	23,53	76,47	0,31

*El peso y el volumen es de 100 granos, REN.B.H.= % rendimiento en base húmeda a partir del peso tal cual de harina sin testa, REN_BS = % rendimiento en peso seco, AL_TOT = almidón total, AR = almidón resistente, Al_SOL = almidón soluble, AM = Amilosa, AMP = amilopectina, AM/AMP = relación de Amilosa / amilopectina. Ca = cultivar 'Cochinera blanca', Cb = 'Cochinera blanca', Cm = 'Cochinera morada', Ta = 'Tarragona amarilla', Tp = 'Tarragona parraleña', TL07 = Localidad Tlachichuca 2007, CY06 = San Cayetano 2006, CY11 = San Cayetano 2011, CY12 = San Cayetano 2012, ZOA07 = Zoapan 2007.

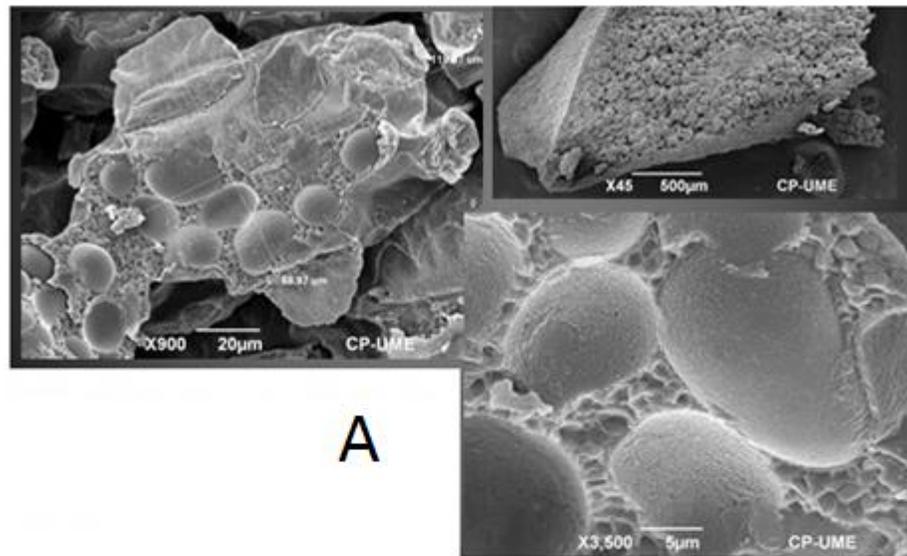
Continuación Cuadro 16A

	Análisis proximal en almidón y pH					Propiedades funcionales en almidón (% Transmitancia , absorción, solubilidad, e hinchamiento)							Color en almidón	
	(% p.s.)	(% s.)	(% p.s.)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	g gel/g al.	(%)	g agua/g al.	(%)
TRAT	LIP	CEN	AZ_S	pH_AL	H_AL	T-0H	T-24H	T-48H	T-72H	IAA	ISA	PHIN	ΔE	IB
22CbTL07	0,1797	0,0700	0,0105	8,48	7,84	0,89	0,34	0,29	0,30	10,05	16,52	13,98	2,61	94,36
22CbCY11	0,1594	0,0436	0,0105	7,80	8,24	0,89	0,35	0,28	0,29	11,49	17,00	13,39	2,04	93,10
93CaTL07	0,1665	0,1371	0,0072	8,37	11,64	0,92	0,35	0,27	0,27	12,61	16,19	15,04	3,95	91,94
93CaCY11	0,4035	0,0520	0,0103	8,39	11,04	0,93	0,37	0,30	0,29	12,67	15,33	15,68	4,34	92,50
146CmTL07	0,3694	0,1296	0,0104	7,98	7,41	1,49	0,35	0,33	0,26	12,25	14,58	14,34	2,25	92,90
146CmCY11	0,6577	0,0984	0,0105	7,98	8,42	1,00	0,31	0,30	0,29	10,96	13,56	12,68	2,72	91,99
160CbTL07	0,1354	0,1529	0,0105	8,11	8,50	1,11	0,31	0,30	0,29	11,03	12,33	12,60	1,96	93,41
160CbCY11	0,4912	0,1729	0,0104	8,11	7,41	1,08	0,29	0,28	0,28	11,27	14,50	13,18	2,05	93,67
181TpTL07	0,1660	0,2073	0,0105	8,37	8,41	1,58	0,32	0,30	0,29	SM	SM	SM	3,53	92,92
181TpCY11	0,1499	0,1213	0,0106	8,52	9,28	1,16	0,30	0,28	0,27	12,81	14,16	12,81	3,14	92,19
281TaTL07	0,2424	0,1717	0,0103	8,20	6,78	1,25	0,29	0,26	0,27	11,26	14,56	13,17	3,47	93,00
281TaCY11	0,4644	0,1297	0,0106	7,91	14,76	0,92	0,35	0,27	0,27	11,09	13,50	12,82	4,18	92,27
288TaTL07	0,1736	0,1064	0,0104	7,87	7,25	0,90	0,28	0,27	0,26	13,67	13,22	15,75	2,59	92,67
288CY11	0,4736	0,0440	0,0096	8,14	8,94	1,39	0,30	0,29	0,27	13,53	14,54	15,53	5,13	91,72
181TpCY06	0,7828	0,2430	0,0105	8,30	8,15	1,17	0,29	0,28	0,27	SM	SM	SM	3,47	92,72
181TpCY12	0,4380	0,2210	0,0107	8,36	9,38	1,78	0,34	0,30	0,30	SM	SM	SM	3,58	92,75
181TpZ07	0,3100	0,0762	0,0105	8,56	8,38	1,23	0,31	0,28	0,28	SM	SM	SM	4,12	92,27
89TaTL07	0,2249	0,0219	0,0086	8,41	6,95	1,18	0,29	0,26	0,26	SM	SM	SM	3,64	92,27
89TaZOA07	0,2363	0,0215	0,0088	8,32	8,83	1,15	0,30	0,29	0,26	SM	SM	SM	4,72	91,38

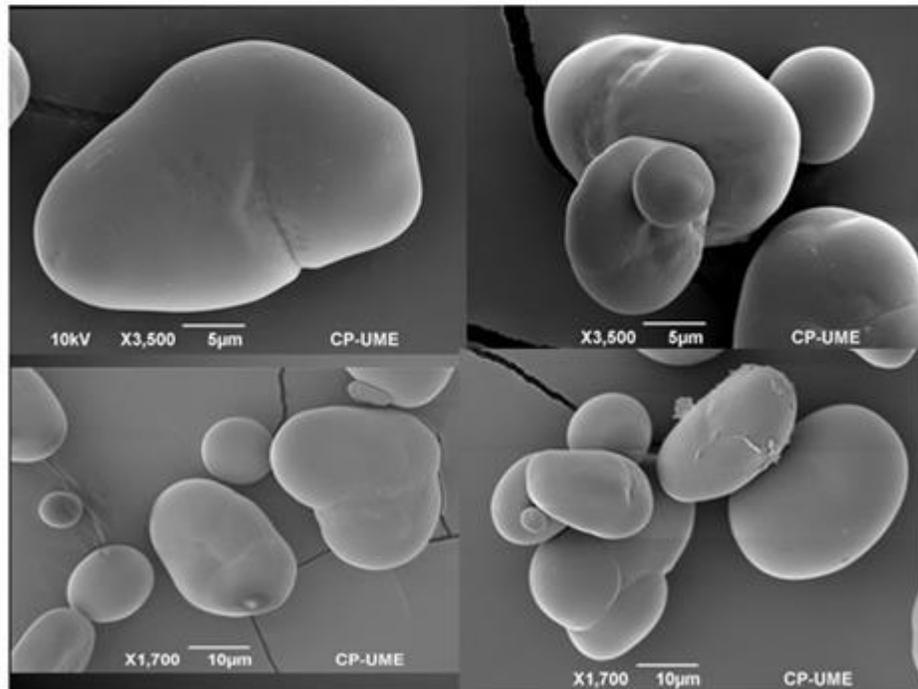
%p.s. = porcentaje de peso seco, LIP = Lípidos, CEN = Cenizas, AZ_S = Azúcares solubles, pH_AL = pH del almidón, H_AL = humedad en almidón, T-0H, T-24H, T-48H, T-72H = Claridad o Transmitancia de luz a 0, 24, 48, y 72 horas, IAA = Índice de absorción de agua, ISA = Índice de solubilidad en agua, PHIN = Poder de hinchamiento. SM = Sin material suficiente.



Figura 1A Fotografías de los cultivares de haba utilizados en ésta investigación. Colegio de Postgraduados, Puebla.



A



B

Figura 2A Imágenes de microscopía electrónica de barrido de gránulos nativos de haba A. Dentro de células del endospermo, B. Gránulos extraídos. Colegio de Postgraduados Campus Montecillos.

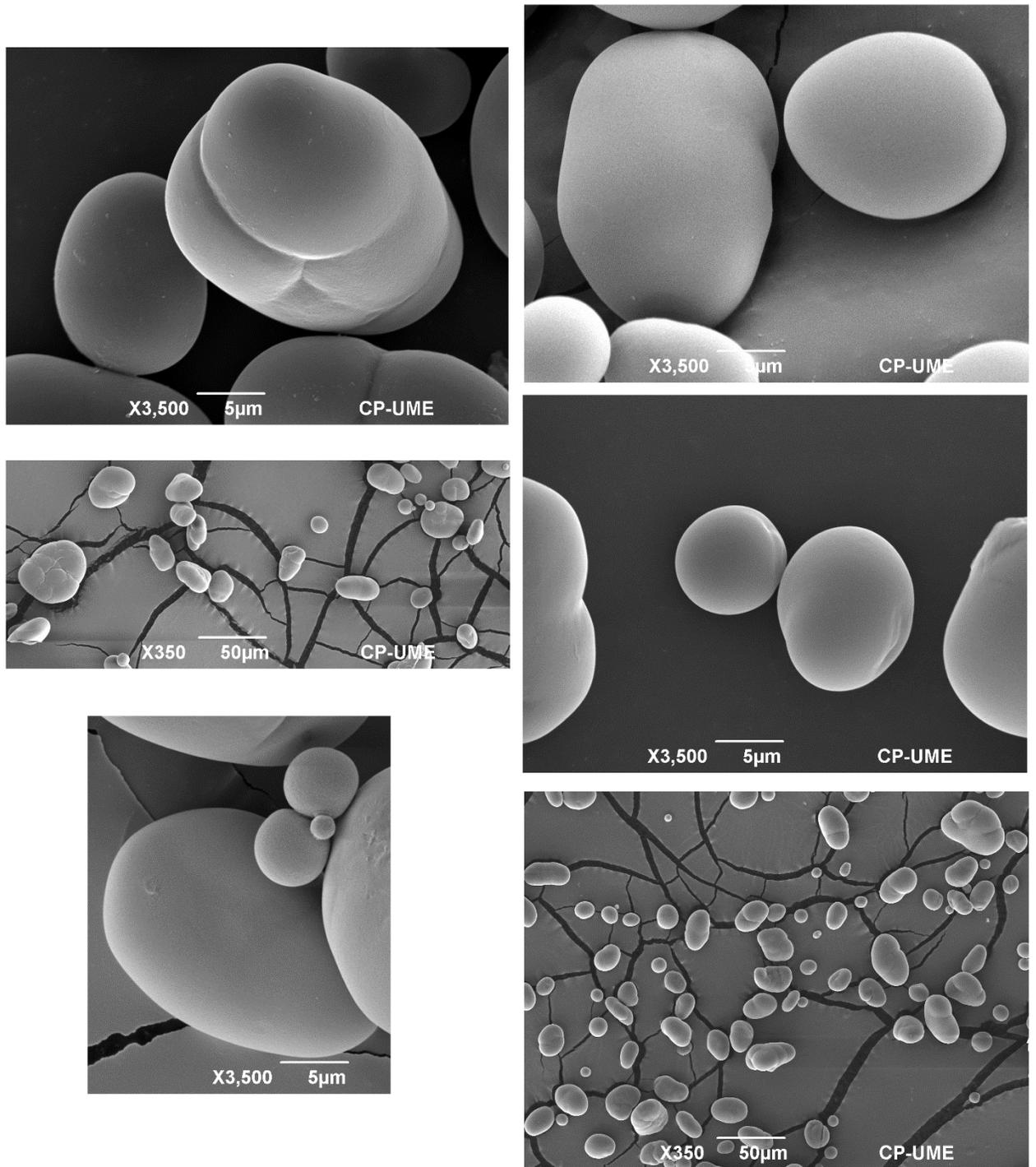


Figura 3A Imágenes de microscopía electrónica de barrido de gránulos nativos de haba. Colegio de Postgraduados Campus Montecillos.



Figura 4A Imágenes del almidón extraído en el Laboratorio.

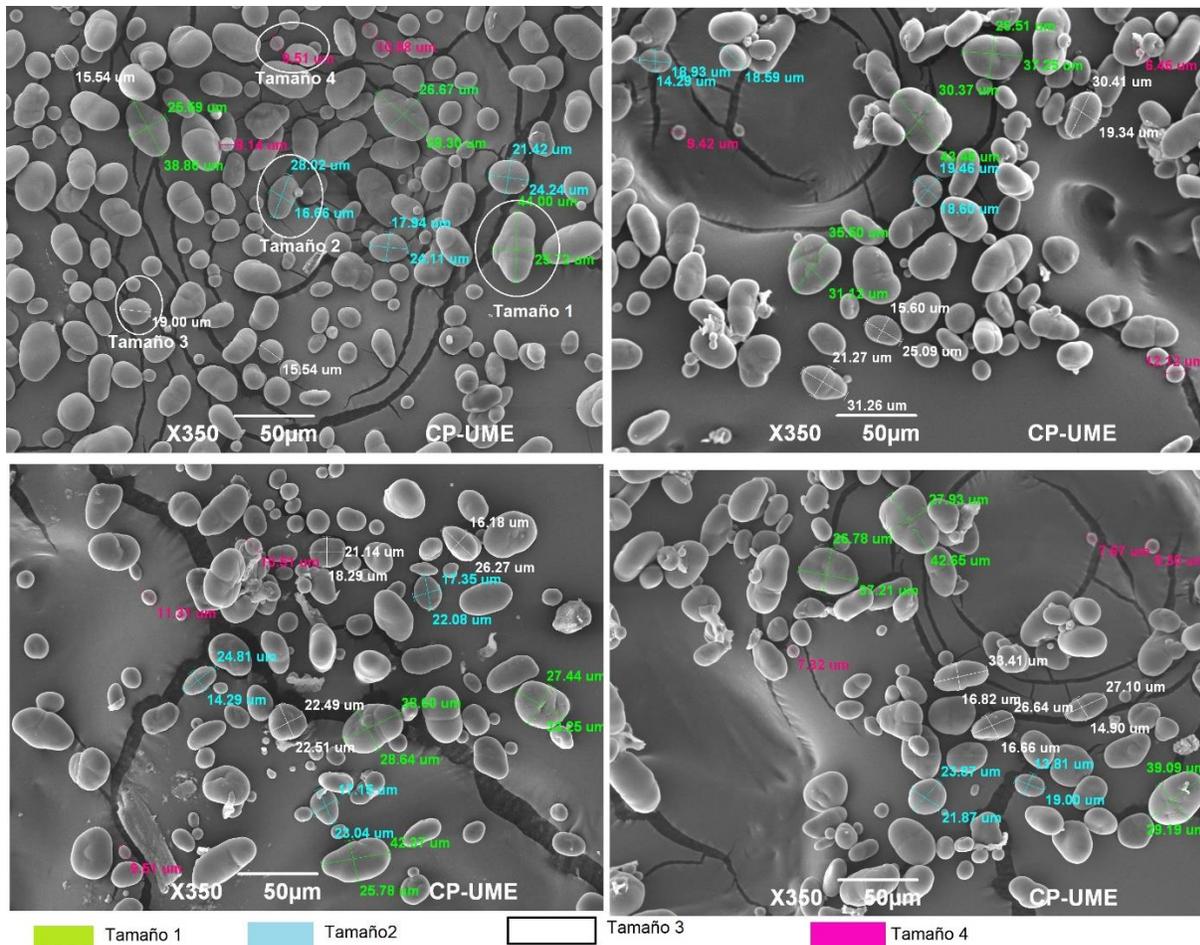


Figura 5A Ejemplos de muestreo de microimágenes sobre los almidones de cada colecta, se clasificaron cuatro tamaños y se contaron gránulos en cada imagen para determinar una distribución aproximada de tamaños de los gránulos. La diversidad de tamaños de los gránulos de almidón de Vicia Faba en los cultivares de éste trabajo es tal, que no posee una distribución normal. Se observan superficies lisas y presencia de gránulos grandes (hasta 50 µm), y pequeños (entre 5 y 15µm), característica de almidones que resisten la digestión enzimática. Funcionalmente producen pastas turbias adecuadas para conferir espesor. Los gránulos más grandes poseen mayor facilidad para gelatinizar que los pequeños, tal morfología confiere propiedades distintas del almidón nativo de haba en comparación con los almidones de uso común.