

Efecto de la alta presión hidrostática (APH) en la imbibición de agua, tiempos de cocción y microestructura del *Phaseolus vulgaris*

Elba Sangronis, Albert Ibarz, Gustavo V. Barbosa-Cánovas, Barry G. Swanson

Universidad Simón Bolívar. Caracas, Venezuela - Universitat de Lleida. Spain - Washington State University. USA

RESUMEN. En este estudio se evaluó el efecto de la alta presión hidrostática (APH) en la imbibición de agua, tiempos de cocción y la microestructura de los cotiledones y la cubierta de granos de *Phaseolus vulgaris*. Los tratamientos a 275, 410, 550 ó 690 MPa a 25°C por 5 min incrementaron la velocidad de imbibición de agua alcanzando la saturación en la mitad del tiempo. La APH redujo los tiempos de cocción (TC) de los granos sin remojar en un 25% a 39% comparable al de los granos remojados en agua por 3 h. Las fotografías con microscopía de barrido (MEB) demostraron una agregación de la matriz proteica, hinchamiento de las paredes celulares y de los gránulos de almidón en las células de los cotiledones de los granos de *Phaseolus vulgaris* tratados con APH. La cubierta externa perdió su suavidad y las capas celulares se hincharon, comportamiento similar al observado cuando los granos se remojan. La APH parece ser una alternativa para reducir los largos tiempos de preparación del *Phaseolus vulgaris*.

Palabras clave: *Phaseolus vulgaris*, Alta presión hidrostática, agua imbibida, frijoles, tiempo de cocción, microestructura, leguminosas.

SUMMARY. Effect of high hydrostatic pressure on water imbibition, cooking times and microstructure of *Phaseolus vulgaris*. The effect of high hydrostatic pressure (HHP) on water imbibition, cooking times, and microstructure of cotyledons and seed coats of black beans was evaluated. High pressure treatments at 275, 410, 550 or 690 MPa and 25°C for 5 min increased the rate of water imbibition of black beans. The saturation degree of HHP treated black beans was reached 50% faster than the saturation degree of untreated black beans. High hydrostatic pressure treatments reduced the cooking times (CT) of unsoaked black beans by 25% to 39%, similar to black beans soaked for 3 h. The microstructure of HHP treated beans exhibited protein aggregation in cell protoplasm and swelling of cell walls and starch granules. Seed coats of HHP treated black beans were less smooth than seed coats of untreated black beans. The swelling of palisade, hourglass, and parenchyma cells was also observed in HHP treated black beans such as soaked beans. High hydrostatic treatment is an alternative for reducing the preparation long times of *Phaseolus vulgaris*.

Key words: *Phaseolus vulgaris*, black beans, high hydrostatic pressure, water imbibition, cooking times, legumes, microstructure.

INTRODUCCION

En los países en vías de desarrollo, las leguminosas, en especial las del género *Phaseolus* representan la principal fuente de proteínas para un gran sector de la población (1). En Venezuela, la leguminosa más consumida es el *Phaseolus vulgaris* conocida como caraotas blancas, negras o rojas dependiendo el color de su cubierta externa. La preparación de *Phaseolus vulgaris* incluye el remojo en agua por 8 a 16 horas y cocción por varias horas. La razón del remojo es permitir que el agua penetre las capas externas del grano lo cual aseguraría el ablandamiento más rápido mediante la cocción (2). Pero a veces, ni siquiera el remojo, ni la cocción por varias horas son suficientes para alcanzar el ablandamiento deseado del grano, ello es básicamente debido a la presencia de defectos en la textura en el *Phaseolus*, los cuales se desarrollan durante el almacenamiento del grano a

altas temperaturas y altas humedades, típicas de las zonas tropicales y subtropicales (3). Los defectos de textura de los granos están asociados a cambios químicos y estructurales. El llamado defecto "hard to cook" ocasiona que las caraotas a pesar de que absorben suficiente agua durante el remojo, no se suavizan durante un período de tiempo razonable de cocción (3,4). La adhesión entre las células y la formación de pectatos son algunas de las causas asociadas a granos duros aún después de la cocción (5). En contraste en los granos ablandados por cocción se observa gelatinización del almidón, desnaturalización de proteínas, ruptura de la lamela media y separación entre células del cotiledón (5,6). Dichos efectos son determinantes en la textura del grano después de la cocción y son dependientes de la cantidad de agua imbibida durante los períodos de remojo (5-7).

Adicional a los métodos de preservación tradicionales donde se utiliza calor, en las últimas décadas se está

investigando la aplicación de la alta presión hidrostática y su efecto en las propiedades de los alimentos. En dicha tecnología se aplican presiones del orden de 405 a 910 MPa con la finalidad de procesar el alimento sin necesidad de utilizar calor. A diferencia del procesamiento térmico no hay fase de calentamiento y de enfriamiento, lo que hace que los tiempos de procesamiento sean más cortos, con la ventaja adicional de obtener productos en los cuales se conservan casi intactas las vitaminas y las propiedades sensoriales (8).

Se han estudiado otras metodologías para incrementar la imbibición de agua y acortar así el tiempo de remojo, entre estas se encuentran: aumentar la temperatura de remojo a 30°C (9), añadir NaCl u otras sales o agentes quelantes al agua de remojo (10,11), acondicionamiento de los granos antes del remojo con irradiación gamma (12), microondas (13), vacío (14) o ultrasonido (15). Por esta razón, en esta investigación se evaluó el tratamiento de la APH como un proceso alternativo para modificar la imbibición de agua, los tiempos de cocción y su relación con los cambios observados en la microestructura de los granos del *Phaseolus vulgaris*

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron granos del *Phaseolus vulgaris* L. cv. Black Turtle Soup, adquiridos en un proveedor de Homedale, ID (USA).

Tratamiento: Veinte gramos de granos de *Phaseolus vulgaris* no remojados fueron colocados en bolsas de polietileno (7 cm x 5 cm) y se les añadió agua desionizada (1:3 p/p). Las bolsas fueron cerradas en caliente, y a su vez, dos de ellas fueron colocadas en una bolsa más grande (23 cm x 25 cm) con agua corriente, selladas en caliente y sometidas al tratamiento con alta presión hidrostática (APH) dentro de un equipo (Engineering Pressure Systems, Inc., Andover, MA). El medio presurizante fue una solución acuosa al 5% (v/v) del líquido denominado Mobil Hydrasol 78. Las presiones ensayadas fueron 275, 410, 550 ó 690 MPa a 25°C por 5 min. El tiempo requerido para alcanzar las presiones de ensayos fueron 2,7; 3,3; 4,5 y 5,5 min, respectivamente. Cada tratamiento con APH fue replicado y los análisis fueron realizados por triplicado.

Agua imbibida: Para calcular la imbibición de agua de los granos secos y crudos se les añadió agua desionizada a 25°C (1:5 p/p) por 24 h. Después de cada hora, los granos remojados fueron drenados, pesados, y el exceso de agua fue eliminado con papel absorbente. Una vez pesados, los granos fueron devueltos al recipiente con el agua de remojo. La cantidad de agua imbibida fue expresada en base seca. Para calcular la cantidad de agua imbibida durante el tratamiento

de APH y conocer como el tratamiento afectó la habilidad de los granos de imbibir agua a continuación del tratamiento, los granos fueron drenados, pesados y remojados en agua desionizada a 25°C (1:5 p/p) por 24 horas. La habilidad de imbibir agua como una consecuencia del tratamiento con APH fue determinada después de 3, 6, 9 y 12 h de remojo (5,7,16). La corrección de sólidos perdidos durante el tratamiento de APH ó el remojo no fue considerada.

Tiempos de cocción: Los tiempos de cocción (TC) fueron determinados usando la versión modificada de la olla de Matson (17-19). El TC de los granos de caraotas se define como el tiempo en minutos requerido para penetrar el 50% del grano (17). El TC de las caraotas negras tratadas con APH se determinó después del tratamiento, mientras que el TC de las no tratadas con APH fue determinado en los granos sin remojar y los granos después del remojo por 3, 6, 9 ó 12 h.

Microscopia de barrido: Los granos crudos, remojados por 16 horas, remojados y cocidos y tratadas con APH, fueron fracturados transversalmente con una hojilla, las secciones fueron fijadas con glutaraldehído/formaldehído (2% / 2%) en buffer fosfato pH 7,2 (0,5 M) durante 2 h a 4°C. Las secciones fijadas fueron enjuagadas con el mismo buffer y deshidratadas con una serie de soluciones de etanol (30, 40, 60, 75, 90, y 100%), durante 10 min. en cada (7,18). Las secciones deshidratadas, se colocaron en un secador por punto crítico (Samdri-PVT-3B, Rockville, MD) se cubrieron con oro (300 µm) en un recubridor (Technics, San José, CA), y se examinaron con un microscopio de barrido (S-570) Hitachi, Corp, Tokio, Japón) a un voltaje de aceleración de 20 kV (20).

Análisis estadístico: Para el análisis de los datos se utilizó el programa estadístico Minitab®, versión Release 12 (Minitab Inc, 1997). La media de la imbibición de agua y el TC fueron calculados. El análisis de varianza (ANOVA) se realizó siguiendo el procedimiento del modelo lineal. La comparación entre los granos crudos, remojados y tratados con APH se hizo con la prueba pareada t (21). El nivel de significancia fue definido a $p < 0,05$.

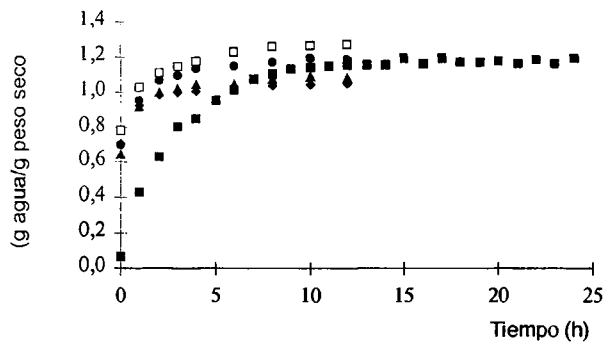
RESULTADOS Y DISCUSION

Imbibición: La curva de imbibición de agua de los granos de *Phaseolus vulgaris* remojados en agua, normalmente exhibe una forma característica, la cual se pudo validar en este estudio (Figura 1), en dicha figura se distinguen dos fases: una primera fase donde los granos imbiben agua rápidamente del medio de remojo, seguida de una fase donde los granos se saturan con el agua y alcanzan un equilibrio, el

cual generalmente ocurre después de 10 a 16 h de remojo (5,7,16). Se observó que los granos de *Phaseolus vulgaris* no tratadas alcanzaron la saturación a las 10-12h de remojo, tiempo comparable con estudios previos (7), mientras que en aquellos granos tratados con APH, la saturación fue alcanzada en un rango de 5 a 6 horas de remojo, lo que representa un 50% de reducción de tiempo de remojo. Con respecto a la cantidad de agua imbibida, esta se incrementó en aproximadamente 10-12 veces dependiendo de la presión utilizada. Los granos tratados a 550MPa presentaron un contenido de humedad significativamente mayor que los granos tratados a 275, 410 ó 690MPa. Las diferencias de agua imbibida por la aplicación de 275, 410 ó 690 MPa no fueron significativas entre sí.

FIGURA 1

Imbibición de agua en las carotas negras crudas no tratadas □; tratadas a 275 MPa ●; 410 MPa ▲; 550 MPa ◻ ó 690 MPa ◆, remojadas por 24 horas



Las diferencias en el patrón de imbibición de agua son atribuidas al comportamiento de la cubierta externa de los granos así como también a otras estructuras como el micrópilo y el hilum, los cuales controlan la entrada de agua en las semillas de leguminosas (2,22). El aumento de la velocidad y la cantidad de agua imbibida puede ser consecuencia del efecto físico que la APH pudo ejercer en las estructuras de la parte externa del grano.

Tiempos de cocción: El registro del tiempo al cual cada uno de los granos de *Phaseolus vulgaris* alcanzó la textura que permitió la penetración del penetrómetro se presenta en la Tabla 1. La media de los tiempos de cocción (TC) de los granos no tratados ni remojados fue de 44 min. El remojo redujo el TC entre un 30 a 56 % (Tabla 1) según se incrementó el tiempo de remojo (3-12 h). El TC de los granos tratados a 690 MPa fue 27 min lo que representó un 39% de reducción comparada con los granos de carotas crudas, no tratadas ni remojadas (44 min). El tratamiento a 550 MPa redujo el TC de las carotas negras en un 36%. Tratamientos a 410 ó 275 MPa redujeron el TC en un 30 y 25%, respectivamente. Las

diferencias entre el TC los granos tratados a 275, 410, 550 ó 690 MPa no fueron significativas entre sí, a su vez estos tratamientos por 5 min modificaron el TC de los granos y lo hicieron equivalente al TC de los granos remojados por 3 h.

TABLA 1

Tiempo de cocción (TC) de los granos de *Phaseolus vulgaris* sin remojo, remojados por 3,6,9 ó 12 horas y tratados con APH sin remojo previo

Tratamiento	TC (min)
Sin remojo ¹	44,1 ± 1,2 ^a
Remojadas 3 h ¹	30,9 ± 3,8 ^b
Remojadas 6 h ¹	21,6 ± 1,1 ^c
Remojadas 9 h ¹	21,8 ± 1,1 ^c
Remojadas 12 h ¹	19,6 ± 1,4 ^c
APH a 275 MPa ²	31,9 ± 3,7 ^b
APH a 410 MPa ²	30,8 ± 2,5 ^b
APH a 550 MPa ²	28,3 ± 1,3 ^b
APH a 690 MPa ²	27,2 ± 0,9 ^b

APH= alta presión hidrostática

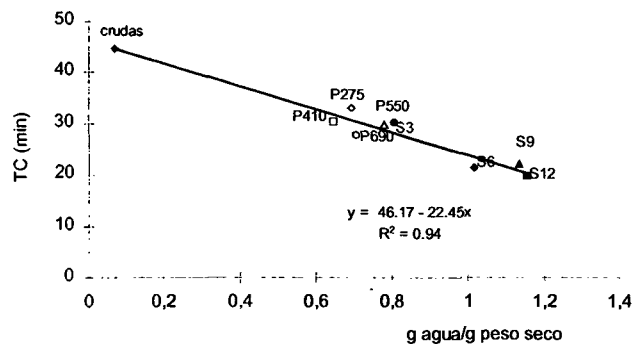
¹Sin tratamiento con APH; ² Sin remojo previo

Medias y desviación estándar de triplicado. Medias con letras diferentes son significativamente diferentes (p<0,05)

Aquellos granos de *Phaseolus vulgaris* que presentaron el mayor porcentaje de agua imbibida durante el remojo, requirieron menores TC que aquellos que imbibieron menos agua. La regresión lineal entre la humedad inicial y el TC (Figura 2) demostró que conociendo el contenido inicial de las muestras antes de la cocción, puede predecirse con precisión (R²= 0,94) el TC de los granos usando la siguiente ecuación: TC = 46,17-22,45 X (donde X es el contenido de humedad antes de la cocción).

FIGURA 2

Tiempo de cocción (TC) como una función del contenido inicial de humedad de los granos de *Phaseolus vulgaris* remojados (S) por 3, 6, 9 ó 12 h y granos tratados con APH (P) a presiones de 275, 410, 550 ó 690 MPa



Microscopía de barrido: En los granos de *Phaseolus vulgaris* se distinguieron gránulos elipsoidales de almidón inmersos en la matriz proteica la cual está formada por cuerpos proteicos ovals que comprimen dicha matriz (Figura 3). Los cuerpos proteicos y los gránulos de almidón sobresalieron de la matriz proteica cuando los granos fueron remojados por 10 horas (Figura 4), en la microestructura de los cotiledones de los granos cocidos se observó la separación entre las células y remanentes de la lamela media interconectando las células (Figura 5).

FIGURA 3

Microfoto obtenida por barrido (MEB). Gránulos de almidón (S) y cuerpos proteicos (PB) Barra=25µm

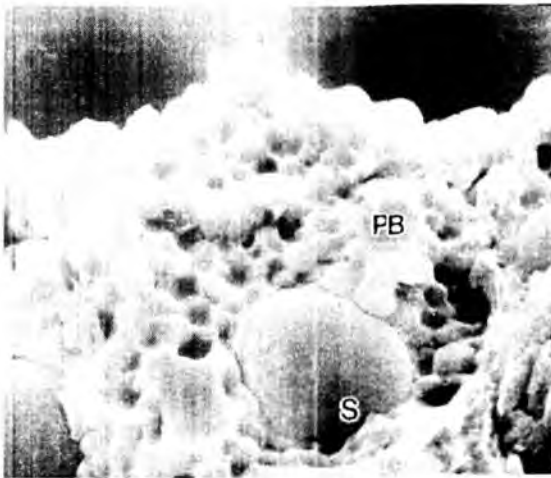


FIGURA 4

Micrografía obtenida por barrido (MEB) de los granos de *Phaseolus vulgaris* remojados por 10 h. Desorganización de la matriz proteica (P), con gránulos de almidón (S). Barra=25µm

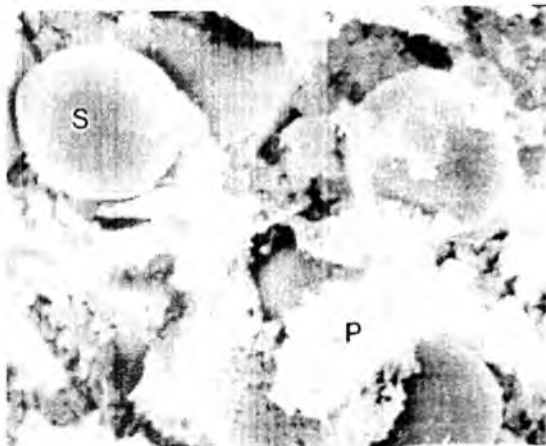
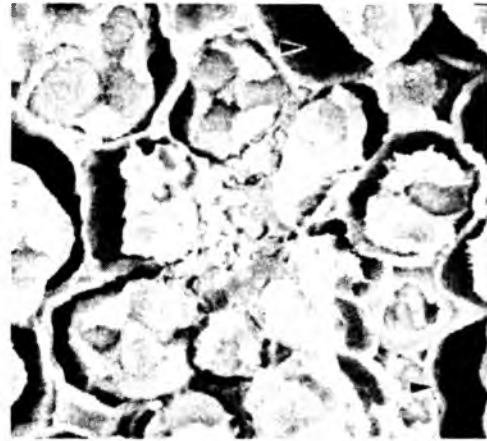


FIGURA 5

Micrografía obtenida por barrido (MEB) de los granos de *Phaseolus vulgaris* remojados y cocidos. La flecha indica la separación entre las células y remanentes de la lamela media (MR) conectando las células. Barra = 25µm



En estudios previos, dichas características han sido relacionadas con el ablandamiento de las caraotas negras suaves por efecto de la cocción (3,4). El tratamiento con APH produjo hinchamiento de las paredes celulares, con algunos gránulos de almidón intactos. Se observó además, una mínima separación entre las células comparadas con las caraotas negras cocidas (Figura 6) y los cuerpos proteicos perdieron su forma definida y redondeada, mientras que la proteína se agregó (Figura 6 y 7). Un incremento de la presión no produjo diferencias entre los efectos observados a nivel celular.

FIGURA 6

Microfotos obtenidas por barrido (MEB) de los granos de *Phaseolus vulgaris* tratados con 275 MPa (A); 410 MPa (B). No separación entre las células, gránulos de almidón intactos, agregación de proteínas y engrosamiento de las paredes celulares. Barra = 50µm

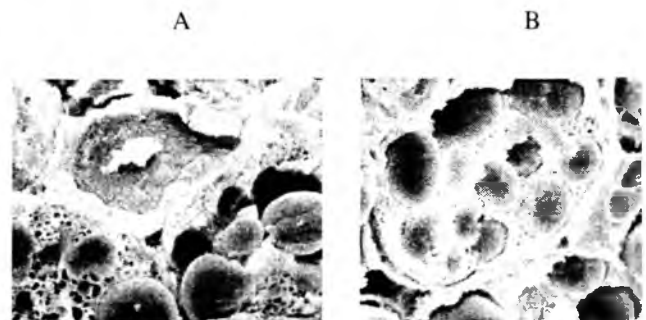


FIGURA 7

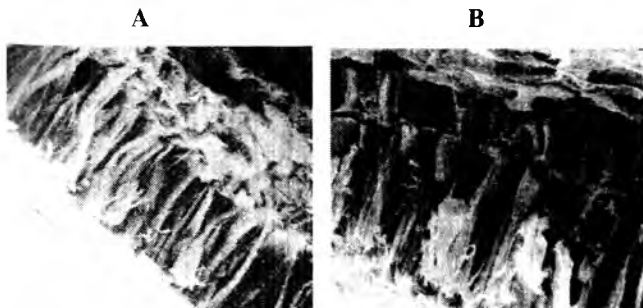
Microfotos obtenidas por barrido (MEB) de los granos de *Phaseolus vulgaris* tratados con 690 MPa. No separación entre las células, agregación de proteínas y engrosamiento de las paredes celulares. Barra = 50µm



La cubierta externa de los granos crudos de *Phaseolus vulgaris*, presentaron la suavidad típica de los granos de leguminosas secos y crudos (Figura 8A). Mientras que la cubierta externa de los granos tratados con APH (Figura 8 B), presentó un hinchamiento o alargamiento de las escléridas también observado cuando los granos se remojan en agua por varias horas. De lo anterior se deriva que el tratamiento con APH parece disminuir la resistencia de la cubierta externa y de las células del parénquima a la entrada de agua, aumentando así la velocidad de imbibición de agua y la cantidad de agua imbibida.

FIGURA 8

Microfotos obtenidas por barrido (MEB) de las capas externas de los granos de *Phaseolus vulgaris* A. Granos crudos exhibiendo superficie suave, células alargadas y células pequeñas. B. Granos tratados a 690 MPa con hinchamiento de las escleroides y del parénquima Barra = 50 µ



En este trabajo se demostró que tratamientos de APH por 5 minutos a temperatura ambiente reducen los prolongados tiempos de preparación los cuales son una limitante del consumo de *Phaseolus vulgaris*. Es importante resaltar que la aplicación de esta nueva tecnología requiere una alta inversión inicial en la adquisición del equipo, pero los costos de procesamiento son mucho menores a la mayoría de los tratamientos térmicos usados para ablandar la textura de los granos de leguminosas. Adicionalmente, los tratamientos con APH no generan efluentes, en contraposición de la gran cantidad generadas por el remojo de los granos del *Phaseolus vulgaris*

REFERENCIAS

1. Bressani R. Antiphysiological factors and apparent protein digestibility of *Phaseolus vulgaris*. Grain Legumes 1994; 7: 21-22.
2. Sefa-Deheh S, Stanley D. Textural implications of the microstructure of legumes. Food Technol 1979; 33:77-83.
3. Stanley D, Aguilera J. Structure and texture in cooked beans. J. Food Biochem. 1985; 9:277-323.
4. García E, Lajolo F, Swanson B. A comparative study of normal and hard-to-cook Brazilian common beans (*Phaseolus vulgaris*): Ultrastructural and histological aspects. Food Structure 1993; 12:47-154.
5. Sefa-Dedeh S, Stanley D, Voisey. Effect of the storage time and conditions on the hard-to-cook defect in cowpea (*Vigna unguiculata*). J Food Sci 1978; 44:790-795.
6. Liu K, Hung Y, Phillips R. Mechanism of hard to cook defect in cowpeas: verification via microstructure examination. Food Structure 1993;12:51-58.
7. Berrios J, Swanson B, Cheong A. Physico-chemical characterization of stored black beans (*Phaseolus vulgaris* L.) Food Resear Inter 1999; 32:669-67
8. Zimmerman F, Berman C. Isostatic pressure equipment for food preservation. Food Technol 1993; 7(6):162-163.
9. Abu-Ghannam N, McKenna B. Hydration kinetics of red kidney beans (*Phaseolus vulgaris* L.). J Food Sci 1997; 62:520-523.
10. Del Valle J, Bourne M. Water absorption and swelling in dry bean seeds. J Food Proc Pres 1992;16:75-98.
11. Garcia-Vela L, Del Valle J, Stanley D. Hard-to cook defect in black beans: The effect of soaking in various aqueous salt solutions. Can. Inst. Sci. Technol. J 1991; 24:60-67.
12. Rao V, Vakil U. Effects of gamma-irradiation on flatulence causing oligosaccharides in green gram (*Phaseolus aureus*). J Food Sci 1983; 48: 1791-1793.
13. Abdul-Kadir R, Bargman T, Rupnow J. Effect of infrared heat processing on rehydration rate and cooking of *Phaseolus vulgaris* (Var. Pinto). J Food Sci 1990; 55:1472-1473.
14. astry S, McCafferty F, Murakami E, Kuhn G. Effects of vacuum hydration on the incidence of splits in canned kidney beans. J Food Sci 1985; 50: 1501- 1503.
15. Uebersax M., Ruengsakulrach S, Occena L. Strategies for processing dry beans. Food Technol 1991.45: 104-108, 110-111.

16. Giami S, Okwechime I. Physicochemical properties and cooking quality of four new cultivars of Nigerian cowpea (*Vigna unguiculate* L Walp). *J Sci. Food Agric* 1993; 57:281-286.
17. Jackson G, Varriano-Marston E. Hard-to-cook phenomenon in beans: Effect of accelerated storage on water imbibition and cooking time. *J Food Sci* 1981; 46:799-803.
18. Hsieh H, Pomeranz Y, Swanson B. Composition, cooking time and maturation of azuki (*Vigna angularis*) and common beans (*Phaseolus vulgaris*). *Cereal Chem* 1992; 69:244-248.
19. Nielsen S, Brandt W, Singh B. Genetic variability for nutritional composition and cooking time of improved cowpea lines. *Crop Sci.* 1993;33:469-472.
20. Kadharmestan C, Baik B, Czuchajowska Z. Whey protein concentrate treated with heat or high hydrostatic pressure in wheat based products. *Cereal Chem* 1998; 75:762-766.
21. Steele R, Torrie J, Dickey D. Principles and Procedures of Statistics a Biometrical Approach. 3rd edition. Mc Graw-Hill Book Co. NY. 1997. pp.138-177.
22. Swanson B. Traditional and potential products from grain legumes. Invited presentation to symposium *Grain Legumes as alternative Crops*. Center for Alternatives Crops and Products. Minneapolis, MN. 1987. July.

Recibido: 29-10-2001

Aceptado: 04-04-2002