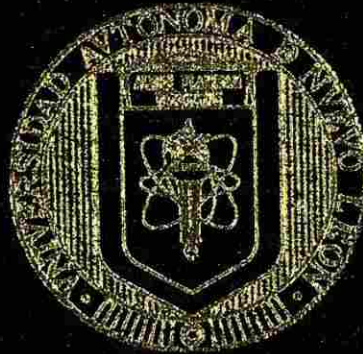


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



EFFECTOS DE LA FORTIFICACION Y ENRIQUECIMIENTO
DE TORTILLAS REGULARES Y DE MAIZ DE ALTA
CALIDAD PROTEICA EN EL DESARROLLO
FISIOLOGICO, CEREBRAL Y DESEMPEÑO EN EL
APRENDIZAJE DE RATAS DE LABORATORIO

TESIS

presentada por

M.C. CARLOS ABEL AMAYA GUERRA

QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS
CON ESPECIALIDAD EN ALIMENTOS

MONTERREY, N. L.

NOVIEMBRE DE 2003

TD

Z5320

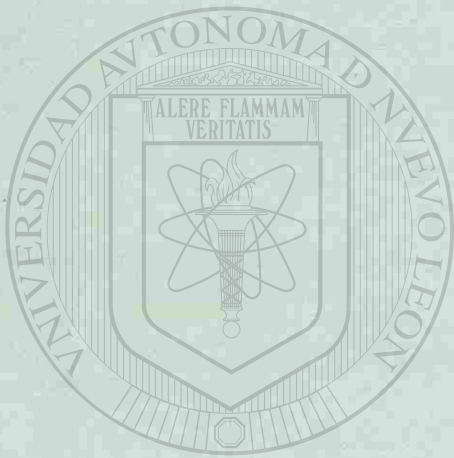
FCB

2003

.A45



1020145973



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

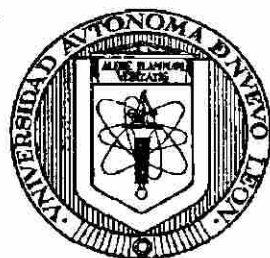
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

m

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



**EFFECTOS DE LA FORTIFICACIÓN Y ENRIQUECIMIENTO DE
TORTILLAS REGULARES Y DE MAÍZ DE ALTA CALIDAD
PROTEICA EN EL DESARROLLO FISIOLÓGICO, CEREBRAL Y
DESEMPEÑO EN EL APRENDIZAJE DE RATAS DE
LABORATORIO**

T E S I S

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

PRESENTADA POR:

M.C. CARLOS ABEL AMAYA GUERRA

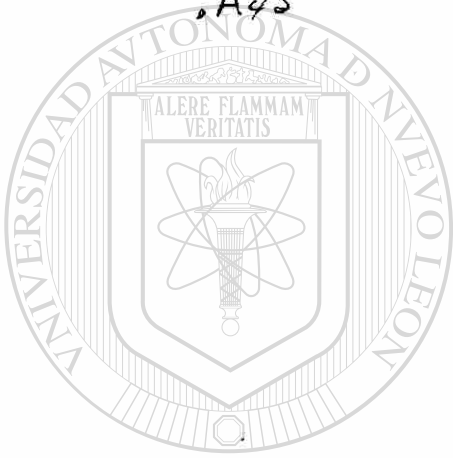
**QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS
CON ESPECIALIDAD EN ALIMENTOS**

MONTERREY, N.L. MÉXICO.

NOVIEMBRE DEL 2003

978 780

TD
Z5320
FCB
2003
.A45



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

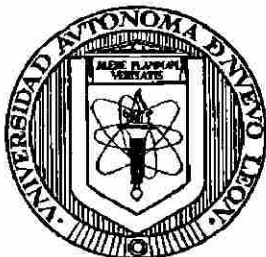


FONDO
TESIS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



**EFFECTOS DE LA FORTIFICACIÓN Y ENRIQUECIMIENTO DE
TORTILLAS REGULARES Y DE MAÍZ DE ALTA CALIDAD
PROTEICA EN EL DESARROLLO FISIOLÓGICO, CEREBRAL Y
DESEMPEÑO EN EL APRENDIZAJE DE RATAS DE
LABORATORIO**

TESIS

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN ALIMENTOS**

PRESENTA

M.C. CARLOS ABEL AMAYA GUERRA

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

**DRA. MA. GUADALUPE ALANÍS GUZMÁN
DIRECTOR DE TESIS INTERNO**

**DR. SERGIO OTHON SERNA SALDÍVAR
DIRECTOR DE TESIS EXTERNO**

MONTERREY, N.L. MÉXICO.

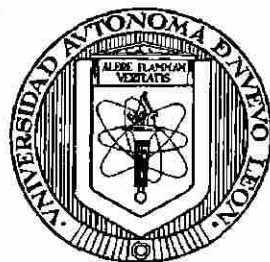
NOVIEMBRE DEL 2003



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



EFFECTOS DE LA FORTIFICACIÓN Y ENRIQUECIMIENTO DE
TORTILLAS REGULARES Y DE MAÍZ DE ALTA CALIDAD
PROTEICA EN EL DESARROLLO FISIOLÓGICO, CEREBRAL Y
DESEMPEÑO EN EL APRENDIZAJE DE RATAS DE
LABORATORIO

TESIS


PRESENTADA POR


M.C. CARLOS ABEL AMAYA GUERRA


COMISIÓN DE TESIS


DRA. MA. GUADALUPE ALANÍS GUZMÁN
DIRECTOR


DRA. CATALINA RIVAS MORALES
SECRETARIO


DR. SÉRGIO O. SERNA SALDÍVAR
1º. VOCAL


DRA. MA. ADRIANA NUÑEZ GONZÁLEZ
2º. VOCAL


DRA. MAYELA BAUTISTA JUSTO
3º. VOCAL

MONTERREY, N.L. MÉXICO.

NOVIEMBRE DEL 2003



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

"Para alimentar a la raza nueva de hombres que los dioses hicieron, con pretensiones de que fueran duraderos y fuertes, tuvieron que buscar un alimento diferente, fue Quetzalcoatl, el dios máximo, el encargado de buscar el maravilloso sustento que sostendría sobre el mundo a una raza de hombres fuertes, quien convirtiéndose en una hormiga negra penetró en el Tonacatpetl o (cerro de las mieses), cogió el maíz y lo llevó a Tamoanchan, lo mascaron los dioses y lo pusieron en boca de los hombres para robustecerlos y los hicieron fuertes"

Leyenda Mexica

DEDICATORIAS

A mi esposa Silvia Leticia

por el amor y apoyo incondicional que me ha brindado

a mis hijos:

Carlos Abel,

Silvia Carolina,

Juan Pablo y

Samuel Gerardo

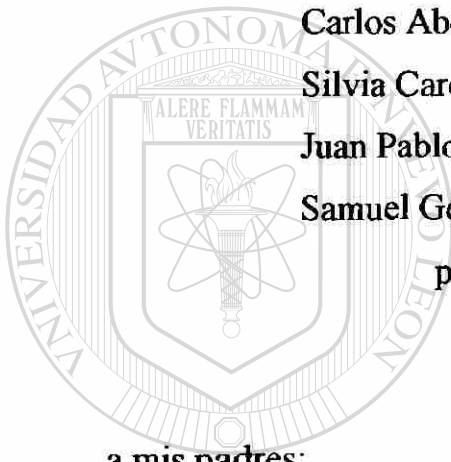
por compartir conmigo sus alegrías

a mis padres:

Mario y

Leonor

por su gran amor y ejemplo que me han brindado.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



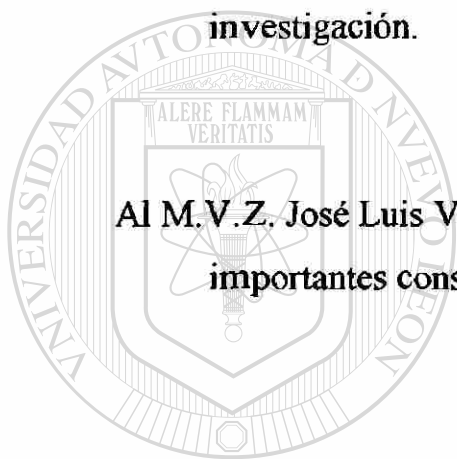
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Sergio Serna por su gran apoyo y sincera disponibilidad sin los cuales no se llevaría a cabo este proyecto.

A la Dra. Guadalupe Alanís por su interés y gran ayuda a lo largo de la investigación.

Al M.V.Z. José Luis Vázquez, Santos y al Dr. Jesús Amaya Guerra por sus importantes consejos y ayuda en el trabajo a nivel laboratorio.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

RECONOCIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de Nuevo León en especial al Laboratorio de Alimentos.

Al Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey en especial a los Laboratorios de Tecnología de Alimentos, Servicios Externos y al Bioterio del Departamento de Medicina.

A la Universidad del Norte de Texas en especial a los Laboratorios de Desarrollo de Algodón y de Neurobiología.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN[®]
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

RESUMEN

El desarrollo físico y cerebral se determinó en ratas durante dos generaciones alimentadas con una dieta indígena rica en tortilla. Se comparó una dieta control de caseína con: 1) una dieta con tortilla de masa fresca (TMR); 2) tortilla regular enriquecida con las vitaminas B₁, B₂, niacina, ácido fólico, hierro y zinc (TRE); 3) tortilla regular enriquecida como la dieta anterior y fortificadas con 6% de harina de soya desgrasada (TSYE); 4) tortilla elaborada con maíz QPM enriquecido con vitaminas y minerales (TQPME); y 5) tortilla elaborada con maíz QPM enriquecida y fortificada con 3% de soya (TQPMSYE). El crecimiento de las ratas alimentadas con las dietas TSYE y TQPMSYE fue significativamente mayor ($P < 0.05$) en ambas generaciones que sus contrapartes alimentadas con las dietas TQPME, TRE y TMR. Las dietas TQPMSYE y TSYE tuvieron el mejor Valor Biológico, Utilización Neta de Proteína y digestibilidad de proteína corregida con el valor de aminoácidos esenciales (PDCEAAS). La preñez, número de crías por camada, peso de las crías y % de supervivencia fue mayor en las ratas alimentadas con las dietas TSYE, TQPME y TQPMSYE. El peso del cerebro y cerebelo en ambas generaciones fue mayor en los animales TSYE y TQPMSYE que las alimentadas con las dietas TQPME, TRE y TMR, observándose diferencias significativas entre estas últimas. Las dietas Control, TSYE, TQPME y TQPMSYE tuvieron mayores cantidades de mielina cerebral en la primera generación. En la segunda generación las ratas alimentadas con la dieta Control presentaron mayor cantidad de mielina, seguida por las dietas TSYE y TQPMSYE, TQPM, TRE y TMR sucesivamente. En la segunda generación de ratas alimentadas con las dietas TSYE, TQPME y TQPMSYE obtuvieron valores mayores de ADN cerebral que las dietas TRE y TMR. Este mismo comportamiento se observó en el tamaño de neurona (proteína/ADN) en ambas generaciones y en la actividad cerebral (RNA/ADN) en la primera generación. El desempeño en las pruebas de memoria de corto plazo fue mejor para las dietas TSYE, TQPMSYE y TQPM en la segunda generación, el mismo comportamiento se observó en la prueba de memoria de largo plazo en ambas generaciones. Las ratas alimentadas con las dietas TSYE y TQPMSYE obtuvieron mejor memoria de trabajo, seguidas por las dietas TQPM, TRE y TMR en la segunda generación. Este mismo comportamiento se registró en la prueba de desempeño de aprendizaje en ambas generaciones.

ABSTRACT

The physiological and brain development of laboratory rats fed with a typical indigenous tortilla diet was studied for two generations. The experiment compared casein control diet and 5 different types of diets: 1) a diet of tortillas obtained from fresh masa (TMR); 2) regular tortillas produced from enriched dry masa flour containing vitamins B₁, B₂, niacin, folic acid and the microminerals iron and zinc (TRE); 3) tortillas produced from enriched dry masa flour fortified with 6% defatted soybean meal (TSYE); 4) tortillas produced from enriched quality protein maize flour (TQPME); 5) and, tortillas produced from enriched quality protein maize flour fortified with 3% defatted soybean meal (TQPMSYE). The growth of rats fed the TSYE and TQPMSYE diets was significantly higher ($P < 0.05$) in both generations than their counterparts fed the TQPME, TRE or TMR diets. Animals fed QPM tortilla had the highest protein digestibility, but the TQPMSYE and TSYE diets had the highest biological value (BV), net protein utilization (NPU), and protein digestibility corrected EAA scores (PDCEAAS). The pregnancy rate, number of newborns/litter, litter weight, and newborn survival rate was also higher for rats fed TSYE, TQPME and TQPMSYE diets than their counterparts fed TRE and TMR. The brain and cerebellum weight on both generations were significantly higher in the TSYE and TQPMSYE diets than the TQPME, TRE and TMR diets. The brain myelin was also higher in the Control, TSYE, TQPME and TQPMSYE diets than their counterparts fed TRE and TMR in the first and second generation rats. Rats fed the Control diet had the greater amount of myelin, followed by rats fed TSYE and TQPMSYE, TQPM, TRE and TMR diets. There was not any significantly difference in brain DNA in the first generation. Second generation rats fed TSYE, TQPME and TQPMSYE diets have higher DNA amount than rats fed TRE and TMR diets, like wise these rats had higher brain neuron size (protein/DNA) on both generations and brain activity (RNA/DNA) in the first generation. Short term memory performance in the Morris maze was significantly different among the TSYE, TQPMSYE and TQPM diets, and the TRE and TMR in the second generation. The same difference was observed in the long term memory performance in both generations. In second generation rats the TSYE and TQPMSYE diets produced rats with better working memory followed by TQPM, TRE and TMR diets, these rats also had better learning performance on both generations.

ÍNDICE

	Página
DEDICATORIAS	v
AGRADECIMIENTOS	vi
RECONOCIMIENTOS	vii
RESUMEN	vii
ABSTRACT	ix
ÍNDICE	x
ÍNDICE DE TABLAS	xiii
LISTA DE ABREVIACIONES	xvii
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	7
HIPÓTESIS	8
ANTECEDENTES	9
Historia del maíz	9
Clasificación del maíz	11
Producción de maíz	12
La planta del maíz	13
El grano de maíz	13
Composición química del maíz	14



UANL

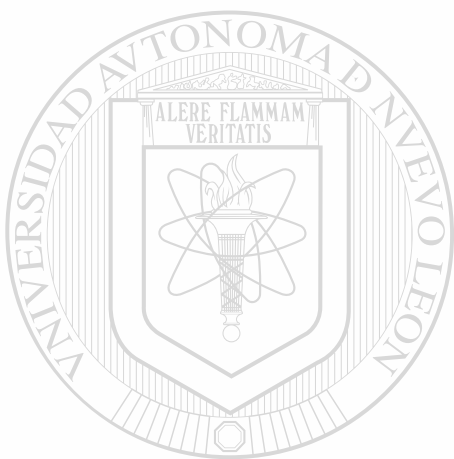
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



	Página
Maíz QPM	19
Elaboración de tortillas	21
Problema de la desnutrición	27
Desnutrición y desarrollo cerebral	30
Fortificación y enriquecimiento de alimentos	41
Determinación de la calidad proteica de alimentos	45
Pruebas para determinar la memoria de corto plazo, memoria de largo plazo, memoria de trabajo y desempeño de aprendizaje en modelos animales	48
MATERIALES Y MÉTODOS	54
Materia prima	54
Elaboración de las dietas	55
Caracterización química nutrimental de las dietas	58
Determinación de energía digestible	58
Determinación de aminoácidos	58
Bioensayos con ratas	59
Estudio metabólico	60
Cuantificación de proteína, ADN y ARN	61
Análisis histológicos del hipotálamo	63
Cuantificación de la mielina del cerebro y cerebelo	64
Análisis de memoria y desempeño de aprendizaje	65
Análisis estadísticos	66
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	67
Composición de las dietas	67
Estudio de crecimiento	68
Estudio de desempeño reproductivo	77
Estudio histológico y bioquímico del cerebro	80
Estudio de memoria y desempeño de aprendizaje	88

		Página
CONCLUSIONES	103
BIBLIOGRAFÍA	107
ANEXO 1	129



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

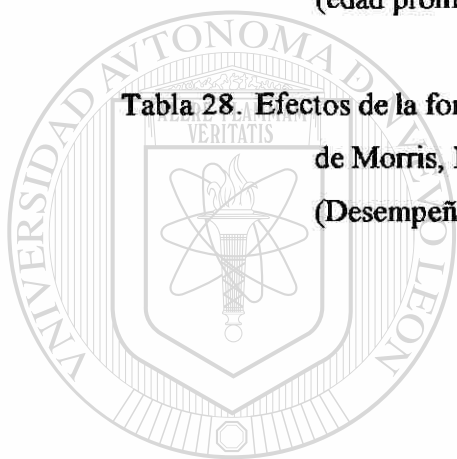
ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Composición química proximal de las partes anatómicas principales de los granos de maíz en base seca. 15
Tabla 2. Composición aproximada del maíz en bruto y de las tortillas de fabricación casera e industrial. 25
Tabla 3. Composición típica de la dieta Otomí (peso seco). 56
Tabla 4. Tratamientos utilizados en las pruebas de crecimiento para ratas de laboratorio. 57
Tabla 5. Ingredientes utilizados para la elaboración de dieta control basada en caseína. 58
Tabla 6. Composición química de las dietas. 67
<hr/>	
Tabla 7. Composición de aminoácidos en las dietas. 68
Tabla 8. Efectos del enriquecimiento y fortificación de tortillas en el crecimiento de ratas de la primera generación. 70
Tabla 9. Efectos del enriquecimiento y fortificación de tortillas en el crecimiento de ratas de la segunda generación. 71
Tabla 10. Comparación del crecimiento entre la primera y segunda generación de ratas. 72

Tabla 11. Efectos de la fortificación y enriquecimiento de tortillas en valores de digestibilidad y retención de nitrógeno de las ratas de la 1° generación. 74
Tabla 12. Efectos de la fortificación y enriquecimiento de tortillas en el % de preñez, peso de la camada y crecimiento de ratas lactantes. 78
Tabla 13. Efectos de la fortificación y enriquecimiento en el tamaño de cerebro, cerebelo y contenido de mielina en ratas de la 1° generación (edad prom. 158 días). 83
Tabla 14. Efectos de la fortificación y enriquecimiento en el tamaño de cerebro, cerebelo y contenido de mielina en ratas de la 2° generación (edad promedio 62 días). 84
Tabla 15. Efectos de la fortificación y enriquecimiento en el total de proteína, ARN y ADN en ratas de la 1° generación (edad promedio 158 días). 85
Tabla 16. Efectos de la fortificación y enriquecimiento en el total de proteína, ARN y ADN en ratas de la 2° generación (edad promedio 62 días). 86
Tabla 17. Efectos de la fortificación y enriquecimiento en el Laberinto de Morris, Prueba de Salida Constante (Memoria de Corto Plazo) en ratas de la 1° generación (edad promedio 64 días). 89
Tabla 18. Efectos de la fortificación y enriquecimiento en el Laberinto de Morris, Prueba de Salida Constante (Memoria de Corto Plazo) en ratas de la 2° generación (edad promedio 58 días). 90

	Página
Tabla 19. Comparación de los efectos de la fortificación y enriquecimiento en el Laberinto de Morris, Prueba de Salida Constante (Memoria de Corto Plazo) en ratas de la 1° y 2° generación. 91
Tabla 20. Efectos de la fortificación y enriquecimiento en el Laberinto de Morris, Prueba de Salida Constante con intervalos de 1 día (Memoria de Largo Plazo) en ratas de la 1° generación (edad promedio 64 días). 92
Tabla 21. Efectos de la fortificación y enriquecimiento en el Laberinto de Morris, Prueba de Salida Constante con intervalos de 1 día (Memoria de Largo Plazo) en ratas de la 2° generación (edad promedio 58 días). 93
Tabla 22. Efectos de la fortificación y enriquecimiento en el Laberinto de Morris, Prueba de Salida Constante con intervalos de 1 día (Memoria de Largo Plazo) en ratas de la 1° y 2° generación. 94
<hr/>	
Tabla 23. Efectos de la fortificación y enriquecimiento en el Laberinto de Morris, Prueba de Salida Variable (Memoria de Trabajo) en ratas de la 1° generación (edad promedio 64 días). 95
Tabla 24. Efectos de la fortificación y enriquecimiento en el Laberinto de Morris, Prueba de Salida Variable (Memoria de Trabajo) en ratas de la 2° generación (edad promedio 58 días). 96
Tabla 25. Efectos de la fortificación y enriquecimiento en el Laberinto de Morris, Prueba de Salida Variable (Memoria de Trabajo) ratas de la 1° y 2° generación. 97

Tabla 26. Efectos de la fortificación y enriquecimiento en el Laberinto de Morris, Prueba de Salida y Plataforma Variables (Desempeño de Aprendizaje) en ratas de la 1° generación (edad promedio 64 días).	98
Tabla 27. Efectos de la fortificación y enriquecimiento en el Laberinto de Morris, Prueba de Salida y Plataforma Variables (Desempeño de Aprendizaje) en ratas de la 2° generación (edad promedio 58 días).	99
Tabla 28. Efectos de la fortificación y enriquecimiento en el Laberinto de Morris, Prueba de Salida y Plataforma Variables (Desempeño de Aprendizaje) en ratas de la 1° y 2° generación.	100



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

LISTA DE ABREVIATURAS

AAE	Aminoácido esencial
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARN	Ácido ribonucleico
BHT	Butil-hidroxitolueno
CA	Consumo de alimento
CP	Consumo proteico
CIMMYT	Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo
DA	Desempeño de aprendizaje
DAB	Diaminobencidina

DMS Diferencia mínima significativa

ΔWt Peso ganado

ED Energía digestible

ELN Extracto libre de nitrógeno

FAO Food and Agricultura Organization

g Gramos

MCP Memoria de corto plazo

mg Miligramos

ml	Mililitros
MLP	Memoria de largo plazo
MT	Memoria de trabajo
No.	Número
NPU	Utilización neta de proteína
OMS	Organización Mundial de la Salud
PDCEAAS	Valor del aminoácido esencial limitante corregido por digestibilidad de proteína
PER	Relación de eficiencia proteica
QPM	Maíz de alta calidad proteica.
TMR	Tortillas de masa regular
TQPME	Tortillas QPM enriquecida
TQPMSYE	Tortillas QPM con soya y enriquecida
TRE	Tortillas de maíz regular enriquecida
TSYE	Tortillas de maíz regular con soya y enriquecida
VAAE	Valor de aminoácidos esenciales
VB	Valor biológico
WHO	World Health Organization

INTRODUCCIÓN

Normalmente se considera el crecimiento de los niños como el mejor indicador global de su salud, porque las infecciones y las prácticas alimentarias inadecuadas, o más a menudo la combinación de ambos, son factores que tienen una importante influencia en su crecimiento físico y su desarrollo mental (OMS, 1995). El crecimiento escaso se puede atribuir a una serie de factores vinculados estrechamente a las condiciones de vida en general y a la capacidad de las personas para cubrir sus necesidades básicas, como son la alimentación, una vivienda adecuada y la atención sanitaria. Los niños que sufren retraso del crecimiento como consecuencia de una alimentación deficiente tienden a presentar un mayor número de episodios diarreicos graves y una mayor vulnerabilidad a algunas enfermedades infecciosas, entre ellas el paludismo, las meningitis y las neumonías (Tomkins, 1989). Existe una relación entre la creciente gravedad de la malnutrición y el incremento considerable de la mortandad infantil (Pelletier et al., 1993, 1995). Hay también pruebas sólidas de que la malnutrición y el crecimiento insuficiente está asociado a un retraso del desarrollo mental (Pollit, 1993), así como a mayores tasas de fracaso escolar y de reducción de la capacidad intelectual (Martorell, 1992). La desnutrición durante la primera infancia también se asocia a déficit funcionales importantes durante la vida adulta (OMS, 1995; Martorell, 1992) y a una disminución de la capacidad de trabajo.

La malnutrición es un problema que afecta principalmente a los mexicanos que habitan en áreas rurales y marginales del país. Datos de la UNICEF (1999) indican que

aproximadamente el 43% de los mexicanos sufren de algún problema de desnutrición. Los nutrientes más deficitarios en la alimentación son: proteína, hierro, vitamina A y algunas vitaminas del complejo B (Chávez et al, 1993; Mora et al, 1966; Zubirán y Chávez, 1963).

El maíz es el alimento principal de la población Mexicana e ingrediente importante en la dieta de muchos países de América. Del grano se prepara el pozole y el pinole; del grano procesado y molturado (masa) se obtienen las tortillas, tamales y tostadas; el grano es el sustrato del hongo comestible huitlacoche. A nivel mundial el 21% del maíz producido se consume directamente como alimento, en México esta cifra se eleva hasta el 68%. Los países con más alto consumo per capita anual de maíz en el mundo son: Malawi (137 Kg), México (127 Kg), Zambia (133 Kg), Guatemala (103 Kg), Honduras (98 Kg), Sudáfrica (94kg), El Salvador (93 Kg) y Kenia (93 Kg), (Morris, 1998).

En países en vías de desarrollo, la fortificación y el enriquecimiento de alimentos es el medio más efectivo para mejorar a mediano plazo el estado nutricional de las poblaciones (PAHO, 1998). Por su alto consumo, las tortillas de maíz se pueden utilizar como vehículo para disminuir o abatir el problema de malnutrición proteica y de micronutrientes en México.

México produce mensualmente más de 230,000 toneladas de harina nixtamalizada de maíz, lo que equivale a 370,000 toneladas de tortillas y un consumo promedio mensual de 4.1 Kg de tortillas/persona (Serna-Saldivar, 1998). La tortilla y productos afines son los productos más consumidos por la población, observándose que entre más bajo es el nivel socioeconómico existe una mayor dependencia hacia estos alimentos básicos. En algunas

zonas rurales, el maíz provee aproximadamente el 70% de las calorías y el 50% del consumo proteico diario. El maíz como todos los cereales es deficiente en los aminoácidos esenciales lisina y triptofano, por lo que su dieta exclusiva conlleva a desórdenes nutricios (Serna-Saldivar, 1998).

La suplementación de las tortillas de maíz con frijoles, soya o cualquier alimento de origen animal (ricos en lisina y triptofano) es la mejor solución para aliviar problemas de malnutrición proteica, pero desafortunadamente algunos grupos poblacionales no tienen los recursos económicos o simplemente la disponibilidad para adquirir estos alimentos (Bressani et al, 1974, 1979; Serna Saldivar et al, 1987, 1988a, 1988b, 1990, 1991, 1992; Sustain, 1997).

En los años 70's el Dr. Adolfo Chávez Villasana estudiando la situación nutricional de la población indígena en México creó una "súper tortilla" la cual contenía 8% de harina desgrasada de soya, tiamina, niacina, riboflavina, ácido fólico, hierro y zinc. Esta tortilla tuvo excelentes resultados entre la población estudiada, pero la soya le impartía un cierto sabor peculiar. Con los avances de nuevos productos de soya se creó una tortilla mejorada con sólo 6% de aislado proteico de soya la cual se reportó con las mismas características sensoriales a la tortilla regular (Reinhold et al, 1984; Serna-Saldivar, 1996a; Muñoz de Chávez y Chávez, 1997).

En 1999 el gobierno Mexicano y las empresas fabricantes de harina de maíz y trigo firmaron un convenio para enriquecer todas las harinas fabricadas en México con 5 mg/Kg

de vitamina B₁, 3 mg/Kg de B₂, 35 mg/Kg de niacina, 2 mg/Kg de ácido fólico, 30 mg/Kg de hierro y 20 mg/Kg zinc.

Sin embargo, la fortificación proteica de la tortilla ha quedado al margen de esta situación. El Grupo MASECA fabrica un tipo de harina nixtamalizada con soya y la reparte en ciertas zonas rurales del país, pero esta actividad no ha tenido eco en todas las industrias relacionadas; en parte por el costo extra que implica esta fortificación, la resistencia al cambio y a los pocos estudios que demuestren los beneficios de la fortificación de la de tortilla.

En los últimos años los avances de la biotecnología y de fitomejoramiento han logrado la producción de nuevos genotipos de maíz denominados QPM que contienen hasta el doble de lisina y triptófano que las variedades regulares. Ratas alimentadas con tortillas de maíz QPM tienen tasas de crecimiento más aproximadas a las ratas alimentadas con caseína que a las ratas alimentadas con maíz regular. En comparación con tortillas regulares la ganancia de peso y razón de eficiencia proteica es el doble que sus contrapartes alimentadas con tortillas regulares (Sproule et al 1998). Además estudios recientes muestran que ratas alimentadas con maíz QPM tuvieron una mejor absorción y retención del calcio indicando un sinergismo entre calidad proteica y el metabolismo de este importante mineral (Serna Saldivar et al 1991,1992).

En estudios en seres humanos se ha encontrado ciertos beneficios de la fortificación con soya de la tortilla en el crecimiento y desarrollo cognoscitivo en niños de áreas rurales (Muñoz de Chávez y Chávez 1997). Con este trabajo pretendemos aportar más evidencias

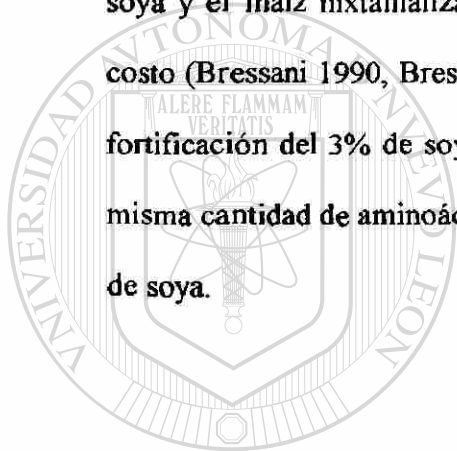
de los beneficios del enriquecimiento y fortificación proteica de la tortilla usando un modelo animal (ratas), para poder estudiar su crecimiento, su desempeño reproductivo, su desarrollo cerebral y desempeño en laberintos, no sólo en un cierto período de tiempo como se hace en los seres humanos, sino durante dos generaciones, logrando así monitorear también el efecto del enriquecimiento y fortificación en las etapas prenatales y de lactancia. Además se utilizó maíz QPM para evaluar su mejor balance de aminoácidos esenciales y determinar si es factible utilizarlo en programas de fortificación de la tortilla.

Para esto se realizó a nivel laboratorio una dieta típica Otomí, que se caracteriza por su alto contenido de tortilla, y se utilizaron cinco tipos de tortillas:

1. elaboradas de manera tradicional con maíz regular, la cual se denomina Tortillas de Masa Regular (TMR),
2. elaboradas con harina nixtamalizada de maíz regular comercial (MASECA) enriquecida con vitaminas y minerales, la cual se llama Tortillas de maíz Regular Enriquecida (TRE),
3. elaboradas con harina nixtamalizada de maíz regular comercial (MASECA) enriquecida con vitaminas y minerales y fortificada con 6% de harina de soya desengrasada, la cual se denomina Tortillas regular con Soya y Enriquecida (TSYE),
4. elaboradas con harina nixtamalizada de maíz QPM enriquecida con vitaminas y minerales, la cual se llama Tortillas QPM Enriquecida (TQPME),
5. elaboradas con harina nixtamalizada de maíz QPM enriquecida con vitaminas y minerales y fortificada con 3% de harina de soya desengrasada, la cual se llama Tortillas QPM con Soya y Enriquecida (TQPMSYE).

Además se utilizó una dieta control o positiva basada en caseína formulada para contener todos los nutrimentos esenciales para el crecimiento óptimo de roedores de laboratorio.

Se utilizó el nivel de enriquecimiento de vitaminas y minerales que utilizan todas las empresas harineras de México. El nivel de fortificación del 6% de la harina regular se eligió por estudios anteriores los cuales demostraron la buena complementación proteica de la soya y el maíz nixtamalizado, vida de anaquel elevada (contenido de grasa bajo) y bajo costo (Bressani 1990, Bressani et al 1974, 1979; Serna Saldivar et al 1988a), y el nivel de fortificación del 3% de soya para la harina QPM se eligió porque teóricamente provee la misma cantidad de aminoácidos esenciales que la harina de maíz regular fortificada con 6% de soya.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Objetivos

General:

Observar los efectos fisiológicos y de desarrollo cerebral causados por el enriquecimiento y fortificación de tortillas de maíz en un modelo animal (ratas) durante dos generaciones.

Específicos:

1. Extrapolar la alimentación de un grupo de bajos recursos económicos (indígenas mexicanos) en ratas.
2. Seguir un estudio de crecimiento en ratas durante dos ciclos de vida para emular ciclos generacionales en humanos
3. Determinar diferencias entre los diferentes tipos de tratamientos:
 - a. Fisiológicas (crecimiento, digestibilidad, retención de nitrógeno, desempeño reproductivo y de madres lactantes).
 - b. Desarrollo cerebral (peso cerebro y cerebelo, densidad sináptica entre neuronas, cuantificación de proteína, mielina, ADN y ARN).
 - c. Memoria y desempeño de aprendizaje en pruebas de laberinto.

Hipótesis

Las ratas alimentadas con dietas elaboradas con tortillas enriquecidas con vitaminas y minerales y fortificadas con soya desgrasada o con de maiz de alta calidad proteica tendrán un mejor desarrollo corporal, reproductivo y cerebral que las alimentadas con dietas con menor nivel de enriquecimiento y/o fortificación. Estos efectos se observarán principalmente en los individuos de la segunda generación.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

ANTECEDENTES

Historia del maíz

El maíz es la planta más domesticada y evolucionada del reino vegetal. El origen y la evolución del maíz han sido un misterio porque éste ha llegado a nosotros altamente evolucionado, sin conocerse formas intermedias. A pesar de extensivas búsquedas de las formas silvestres de esta planta, no ha sido encontrada alguna (Coe et al., 1988).

Existen cuatro hipótesis de cómo se desarrollo el maíz actual:

1.- La descendencia del teosinte. Ésta es la propuesta más antigua, Ascherson la formuló en 1895 (Mangelsdorf y Reeves, 1939) y propuso que el maíz fue domesticado a partir del teosinte por selección realizada por el hombre. Esta es la hipótesis de mayor aceptación hasta la fecha (Beadle, 1986; deWet y Harlan, 1972; Doebley, y Stec, 1991; Doebley et al., 1990; Galinat, 1977; Iltis y Doebley, 1980; Goodman, 1988; Kato, 1984; Kato y López, 1990; Timothy, et al., 1979). El problema principal de esta hipótesis reside en cómo la pequeña espiga femenina se transformó en una espiga gigante (mazorca). Sin embargo, Doebley et al., (1990) encontró cinco genes que controlan la “llave” de las características distintivas entre el maíz y el teosinte, número de genes que fue previamente postulado por Beadle (1972).

2.- La hipótesis tripartita. Esta hipótesis supone que el maíz salvaje que dio paso al maíz que conocemos, ya está extinto. Este maíz salvaje cruzado con el *Tripsacum* dio

origen al teosinte anual. Cruzamientos posteriores del teosinte con maíz salvaje originó las razas modernas (Mangelsdorf y Reeves, 1939; y Mangelsdorf, 1974). Mangelsdorf et al. (1981) cruzaron *Z. diploperennis* y la raza de Palomero Toluqueño y observando al resultado de la cruce, propusieron que el teosinte anual es resultado de esta cruce. Sin embargo no existe ninguna evidencia arqueológica de la existencia de ese maíz salvaje (Eubanks, 1995).

3.- La hipótesis del origen común. Ésta propone que el maíz, el teosinte y el *Tripsacum* se originaron por una “evolución divergente ordinaria” de un ancestro común. Consecuentemente se cree en la existencia de una planta salvaje que posteriormente fue transformada en una planta cultivable por el hombre (Weatherwax, 1955; Randolph, 1955; Randolph, 1959). Este postulado tiene el mismo inconveniente que la teoría tripartita, ya que no hay evidencias arqueológicas de este ancestro.

4.- La hipótesis de transmutación sexual catastrófica. Esta hipótesis propone que la espiga del maíz fue envuelta por la influerescencia terminal masculina por “una repentina transmutación sexual involucrando el tallo primario desencadenado por el medio ambiente y después esta anomalía fue seleccionada por el hombre” (Iltis, 1983). El descubrimiento de cinco genes mutantes que controlan las características diferenciales del maíz y el teosinte (Doebly y Stec, 1991; Doebly, et al., 1990) hace que esta hipótesis sea insostenible.

Existen evidencias que la existencia más antigua del maíz se remonta a unos 7000 años de antigüedad. Se han encontrado por arqueólogos rastros de maíz en el valle de

Tehuacan. Este cereal era un alimento esencial en las civilizaciones maya y azteca y tuvo un importante papel en sus creencias religiosas, festividades y nutrición; ambos pueblos incluso afirmaban que la carne y la sangre estaban formadas por maíz. Los Aztecas adoraron al dios y diosa denominados Centoetl y Chiomecoatl, respectivamente, que representaban el bienestar del pueblo. Similarmente, los mayas idolatraban al dios del maíz y de la vegetación llamado Yum Kaxx (Serna Saldivar et al., 1990).

El maíz cultivado que los conquistadores encontraron, no tenía mayores diferencias con el actual, las reproducciones de plantas y mazorcas en los códices y en los altorrelieves y esculturas, o los granos hallados en tumbas prehispánicas no acusan variantes apreciables con los actuales tipos de cereal. Los antiguos indígenas mexicanos practicaron la selección del maíz a través de la observación y registro de las mezclas de diferentes variedades, sembrándolo por matas, depositando en cada hoyo cuatro granos: rojo, blanco, negro morado y amarillo dorado, con lo cual obtenían variedades diversificadas y mejoradas

(Dewet et al., 1972).

Clasificación del maíz

Basado en la morfología de las glumas, Iltis y Doebley (1980) propusieron un nuevo sistema de clasificación del género. Primero, *Zea* se separó en dos secciones LUXURIANTES y ZEA. La sección LUXURIANTES se agrupó en tres especies: *Z. luxurians* Z., *diploperennis* y *Z. perennis*. La sección ZEA comprende sólo una especie, *Z. mays*, la cual está subdividida en tres subespecies: *ssp mays*, para el maíz, *ssp mexicana*

para las razas Nobogame, Central Plateau y Chalco (Wilkes), y *ssp parviglumis*, la cual está separada en dos variedades, *var. parviglumis* para la raza Balsas de Wilkes y *var. Huehuetenangensis* para la raza Huehuetenango de Wilkes. Más tarde, Doebley (1984, 1990) sugirió que la variedad *huehuetenangensis* fuera elevada a nivel de subespecie.

Producción de maíz

En todo el mundo el maíz es el más ampliamente sembrado en cuanto a cereales se refiere, 70 países incluyendo 53 naciones en vías de desarrollo plantan maíz en más de 100 millones de hectáreas. La gran diversidad en la distribución de la producción del maíz es un indicador de su excelente capacidad para adaptarse a muchos ambientes, ya que crece en latitudes que varían desde el Ecuador ligeramente a 50° al norte y sur y desde el nivel del mar hasta 3000 metros de altura; bajo condiciones de fuertes lluvias y condiciones semiáridas; en climas frescos y calientes y con ciclos que van desde 3 a 13 meses. 500

millones de toneladas de maíz se producen anualmente en 130 millones de hectáreas. Sesenta y cuatro por ciento del área de maíz cultivado en el mundo se encuentra en naciones en vías de desarrollo aún cuando solamente el 43% de la producción del maíz es recolectada ahí. La diferencia entre los países industrializados y las naciones en vías de desarrollo es impresionante. El promedio de rendimiento para los países industrializados es de 6.2 toneladas por hectárea comparado con los 2.5 toneladas por hectárea de rendimiento en las naciones en vías de desarrollo, entre las cuales se encuentra México. La disparidad en el promedio de rendimientos es una consecuencia de factores ambientales, tecnológicos y organizacionales. La mayoría de las naciones productoras de maíz industrializadas tienen temperaturas y ambientes benignos y emplean tecnología intensiva y una producción

altamente mecanizada del maíz. En contraste, las naciones en desarrollo generalmente tienen ambientes más cálidos con mayor dificultad en la producción y emplean recursos pobres y por lo tanto tecnologías que producen bajos rendimientos (CIMMYT, 1994) Datos de la FAO (2003) señalan que en México se cultivaron con maíz 7,179,970 hectáreas ese año, con un rendimiento promedio de 2.4 toneladas por hectárea.

La planta del maíz

Botánicamente, el maíz (*Zea mays* L.) pertenece a la familia de las gramíneas y es una planta anual alta dotada de un amplio sistema radicular fibroso. Se trata de una especie que se reproduce por polinización cruzada y la flor femenina (elote, mazorca, choclo o espiga) y la masculina (espiguilla) se hallan en distintos lugares de la planta. En las panojas son donde se desarrolla el grano, en un número variable de hileras (12 a 16), produciendo de 300 a 1000 granos, que pesan entre 190 y 300 g por cada 1000 granos. El peso depende de las distintas prácticas genéticas, ambientales y de cultivo. El grano constituye aproximadamente el 42% del peso en seco de la planta (Carlson, 1988).

El grano de maíz

El grano de maíz se denomina en botánica cariósipide o cariopsis. Cada grano contiene el revestimiento del fruto denominado pericarpio o cubierta seminal, y la semilla, conformada a su vez por el endospermo y el germen. El endospermo es la parte anatómica del grano de mayor tamaño, corresponde cerca del 83% del peso. En el grano de maíz existe dos tipos de endospermo; el translúcido o vítreo donde los gránulos de almidón

tienen forma cúbica y están compactos, no existiendo aire o espacio entre gránulos y el endospermo opaco, gisoso o harinoso, donde los gránulos de almidón son esféricos, están cubiertos por una matriz proteica y existen muchos espacios de aire entre gránulos. El germen equivale por término medio al 11% y es donde se almacenan los nutrimentos y hormonas que son utilizadas durante la germinación. El pericarpio constituye alrededor del 5% en peso del grano y consta de una capa formada principalmente de fibra que protege el grano. El resto está constituido por la capa terminal o hileal, estructura cónica que junto con el pedicelo une el grano a la mazorca o panícula fusionada (Wolf, et al., 1952).

Composición química del maíz

Las diferentes partes anatómicas del grano difieren en su composición química. El pericarpio contiene aproximadamente 87% de fibra cruda, constituida principalmente por hemicelulosa (67%), celulosa (23%) y lignina (0.1%). El endospermo, en cambio, contiene un nivel elevado de almidón (87%), aproximadamente 8% de proteínas y un contenido de grasas crudas relativamente bajo (Burge y Duensing, 1989).

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tabla 1. Composición química proximal de las partes anatómicas principales de los granos de maíz en base seca

Componente químico	Pericarpio (%)	Endospermo (%)	Germen (%)
Proteínas	3.7	8.0	18.4
Extracto etéreo	1.0	0.8	33.2
Fibra cruda	86.7	2.7	8.8
Cenizas	0.8	0.3	10.5
Almidón	7.3	87.6	8.3
Azúcar	0.34	0.62	10.8

Fuente: Watson, 1987.

El germen se caracteriza por su elevado contenido de grasas crudas (33% en promedio), además contiene un nivel relativamente alto de proteínas (20% en promedio) y minerales.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

El componente químico principal del grano de maíz es el almidón, al que corresponde hasta del 72 al 73% del peso del grano. Otros carbohidratos son azúcares sencillos en forma de glucosa, sacarosa y fructosa, en cantidades que varían del 1 al 3% del grano. En los granos en vías de maduración hay niveles más elevados de monosacáridos, disacáridos y trisacáridos. Doce días después de la polinización, el contenido de azúcares es

relativamente elevado, mientras que el de almidón es bajo. Conforme madura el grano, los azúcares se ven gradualmente transformados en almidón (Boyer y Shannon, 1987).

Después del almidón, las proteínas constituyen el siguiente componente químico del grano por orden de importancia. En las variedades comunes, el contenido de proteínas puede oscilar entre el 8 y el 11% del peso del grano, y en su mayor parte se encuentran en el endospermo. Las proteínas de los granos del maíz han sido estudiadas ampliamente, y según Landry y Moureaux (1982), están formadas por lo menos por cinco fracciones distintas. Conforme a su descripción, las albúminas, las globulinas y el nitrógeno no proteico totalizan aproximadamente el 18% del total de nitrógeno, con proporciones del 7%, 5% y 6%, respectivamente. La fracción de prolamina soluble en isopropanol al 55% y de isopropanol con mercaptoetanol, constituye el 52% del nitrógeno del grano; de éstas la prolamina 1 ó zeína 1 soluble en isopropanol al 55% representa aproximadamente el 42%, y el restante 10% es prolamina 2 ó zeína 2. Una solución alcalina con pH 10 y con 0.6% de mercaptoetanol, extrae la fracción de glutelina 2 en cantidades de aproximadamente el 8%, en tanto que la glutelina 3 es extraída con la misma solución descrita más dodecilsulfato de sodio al 0.5%, en cantidades del 17% dando un contenido total de globulina del 25% de las proteínas del grano. Normalmente, una porción reducida, cerca del 5%, está constituida por nitrógeno residual. Cabe mencionar que desde el punto de vista de composición de aminoácidos esenciales las zeínas son muy bajas en lisina y triptofano. La fertilización nitrogenada generalmente solo incrementa la cantidad de prolaminas que se almacenan en los cuerpos proteicos.

El aceite del grano de maíz está fundamentalmente en el germen y viene determinado genéticamente, con valores que van del 3 al 18%. Dichos valores difieren en alguna medida, y cabe suponer que los aceites de distintas variedades tengan composiciones diferentes. El aceite de maíz tiene un bajo nivel de ácidos grasos saturados: ácido palmítico y esteárico, con valores medios del 11% y el 2%, respectivamente. En cambio, contiene niveles relativamente elevados de ácidos grasos poliinsaturados, fundamentalmente ácido linoleico, con un valor medio de cerca del 24%. Sólo se han encontrado cantidades despreciables de ácidos linolénico y araquidónico. Además, el aceite de maíz es relativamente estable, por contener únicamente pequeñas cantidades de ácido linolénico (0.7%) y niveles elevados de antioxidantes naturales. El aceite de maíz goza de gran reputación a causa de la distribución de sus ácidos grasos, fundamentalmente ácido oleico y linoleico. A este respecto, quienes consumen maíz desgerminado obtienen menos aceite y ácidos grasos que quienes consumen el grano entero (Jellum, 1967).

La fibra en el grano de maíz se encuentra en el pericarpio y la capa terminal, aunque también en las paredes celulares del endospermo y, en menor medida, en las del germen. El salvado de maíz está formado por un 75% de hemicelulosa, un 24.9% de celulosa y 0.1% de lignina en base seca (Burge y Duensing, 1989).

La concentración de cenizas en el grano de maíz es aproximadamente del 1.3%, sólo ligeramente menor que el contenido de fibra cruda. El germen es relativamente rico en minerales, con un valor medio del 11%, frente a menos del 1% en el endospermo. El germen proporciona cerca del 78% de todos los minerales del grano. El mineral que más

abunda es el fósforo, en forma de fitato de potasio y magnesio, encontrándose en su totalidad en el germen con valores de aproximadamente 0.9% en el maíz común. Como sucede con la mayoría de los granos en los cereales, el maíz tiene un bajo contenido de calcio y de oligoelementos (Bressani et al., 1989).

El grano de maíz contiene dos vitaminas solubles en grasa, la provitamina A, o carotenoide, y la vitamina E o tocoferol. Los carotenoides se hallan especialmente en el maíz amarillo, en cantidades que pueden ser reguladas genéticamente, en tanto que el maíz blanco tiene un escaso o nulo contenido de ellos. La mayoría de los carotenoides se encuentran en el endospermo duro del grano y únicamente en pequeñas cantidades en el germen. El beta-caroteno es una fuente importante de vitamina A, aunque no totalmente aprovechada pues los seres humanos no consumen tanto maíz amarillo como maíz blanco. Squibb et al. (1957) determinaron que la criptoxantina y el beta-caroteno equivalía aproximadamente al 51 y al 22% del total de carotenoides (0.4-11.3 µg/g) de tres muestras de maíz amarillo, respectivamente. La proporción de vitamina A o retinol variaba de 1.5 a 2.6 µg/g. Los carotenoides del maíz amarillo pueden oxidarse durante el almacenamiento; Watson (1962) encontró en el maíz recién cosechado valores de 4.8 mg/kg, que al cabo de 36 meses de almacenamiento habían disminuido a 1.0 mg/kg. Lo mismo sucedió con las xantofilas. La otra vitamina liposoluble, la vitamina E, que es objeto de cierta regulación genética, se halla principalmente en el germen. La fuente de la vitamina E son cuatro tocoferoles; el más activo biológicamente es el tocoferol-alfa; aunque el tocoferol-gama es probablemente más activo como antioxidante.

Las vitaminas hidrosolubles se encuentran especialmente almacenadas en la capa de aleurona del grano de maíz, y en menor medida en el germen y el endospermo. Se han encontrado cantidades variables de tiamina y riboflavina; su contenido está determinado en mayor medida por el medio ambiente y las prácticas de cultivo que por la estructura genética, aunque se han encontrado diferencias en el contenido de estas vitaminas entre las distintas variedades. La vitamina a la cual se han dedicado más investigaciones es el ácido nicotínico, a causa de su asociación con la deficiencia de niacina, o pelagra, fenómeno muy difundido en las poblaciones que consumen grandes cantidades de maíz (Christianson et al., 1968). Al igual que sucede con otras vitaminas, el contenido de niacina es distinto según las variedades, con valores medios de aproximadamente 20 µg/g. Una característica propia de la niacina es que está ligada, y por lo tanto, el organismo animal no la puede asimilar; sin embargo existen algunas técnicas de elaboración que permiten la asimilación de la niacina. Durante el cocimiento alcalino se libera a la niacina y se mejora la relación entre la isoleucina y la leucina (Serna Saldivar et al 1990). La asociación de la ingesta de maíz con la pelagra se debe a los bajos niveles de niacina del grano, aunque se ha demostrado experimentalmente que también son importantes los desequilibrios de aminoácidos, por ejemplo la proporción entre la leucina y la isoleucina, y la cantidad de triptofano asimilable (Gopalan y Rao, 1975; Patterson et al., 1980).

Maíz QPM

En 1963 tres investigadores de la Universidad de Purdue: Edwin Mertz, Oliver E. Nelson y Lynn S. Bates buscando maíces con alto contenido de lisina se encontraron con un maíz mutado que tenía el doble de lisina y triptofano que el maíz normal. Este nuevo

maíz producía un endospermo suave y opaco en lugar del duro y cristalino del maíz regular y fue llamado opaco-2 (el segundo mutante del grupo opaco encontrado).

Alrededor del mundo se empezaron a hacer cruces del opaco-2 con los maíces locales y se empezaron estudios de nutrición con esta nueva variedad. En Colombia Pradilla et al. (1975) dio de comer en condiciones controladas el nuevo maíz a siete niños con avanzado estado de desnutrición. Después de dos semanas de tratamiento empezaron a recuperar peso y a los 100 días se veían normales.

Sin embargo las características generales del opaco-2 no eran del todo aceptables; el endospermo harinoso no agradaba a los consumidores en muchas regiones, el grano era pequeño, su rendimiento en campo era del 8 al 15% menor al maíz regular y era más susceptible al ataque de hongos e insectos en campo y almacenamiento. Además el opaco-2 pesaba menos por los espacios de aire alrededor de los gránulos de almidón. Poco a poco

los agricultores, procesadores y consumidores fueron desechándolo hasta que en el final de los años 70s el opaco-2 prácticamente se dejó de producir y consumir.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

A pesar del rechazo al opaco-2, el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) continuó con estudios para desarrollar un endospermo más duro y transparente, incrementar los rendimientos y hacer que el grano se secase más rápido. La clave de este desarrollo fue el método desarrollado por la Dra. Evangelina Villegas el cual podía muestrear tejido del maíz sin afectar su capacidad de germinación. Así, granos que mostraban propiedades nutritivas y agronómicas deseables podían ser propagados.

El resultado de las investigaciones del CIMMYT fue un maíz con las propiedades nutritivas del opaco-2 y con la estructura del grano del maíz regular, el cual fue llamado QPM (del inglés Quality Protein Maize, “maíz de calidad proteica”). En la actualidad muchas variedades de maíz QPM se están comercializando (Nutricia, Nutri-Guarani, Tuxpeño 102, etc.) y muchas investigaciones agronómicas y nutritivas se han realizado.

ELABORACIÓN DE TORTILLAS

Elaboración artesanal

Diversos investigadores han descrito el modo en que se cocina el maíz en las zonas rurales de los países consumidores de tortillas. Illescas (1943) fue el primero en describir el proceso tal como se lleva a cabo en México. Consiste en mezclar una parte de maíz integral con dos partes de una solución de cal al 1% aproximadamente. La mezcla se calienta a 80°C durante un lapso de 20 a 45 minutos y luego se deja reposar toda la noche. Al día siguiente, se decanta el líquido cocido, y el maíz (denominado entonces nixtamal) se lava dos o tres veces con agua para eliminar las cubiertas seminales, la capa terminal, la cal sobrante y las impurezas del grano. Originalmente, se convertía el maíz en masa moliéndolo varias veces con una piedra plana (metate) hasta que las partículas gruesas alcanzaran la finura requerida; actualmente, la molienda inicial se realiza con un aparato de moler carne o con molinos de disco y luego se refina la masa con el metate. Para acabar, se toman unos 50 g de masa y se aplanan, cociéndolo luego por ambos lados en una plancha metálica caliente o placa de arcilla para obtener la tortilla. Estas tortillas generalmente son gruesas y poco flexibles.

Elaboración industrial

Diversos factores, como la migración del campo a la ciudad, hicieron surgir una demanda de tortillas cocinadas o precocidas. Se ideó el equipo necesario para transformar el maíz en bruto en maíz tratado con cal y, posteriormente, en masa y tortillas; y se inició luego la producción industrial de harina para tortilla en México y otros países. Poco después de la Segunda Guerra Mundial, la producción mecanizada de tortillas adquirió importancia en México. En las zonas urbanas hay dos variantes: la primera consiste en pequeñas industrias caseras de propiedad familiar que siguen el procedimiento descrito anteriormente, aunque también utilizan máquinas de mayores dimensiones para atender a un mercado relativamente más amplio. Esto ha sido posible gracias al empleo de molinos rotatorios y de la máquina tortillera diseñado por Romero en 1908; dichas máquinas fueron sustituidas posteriormente por un modelo más eficiente, en el que se pasa la masa por un tambor metálico rotatorio que la corta en forma de tortillas; éstas caen a una cinta transportadora o sartén de cocción continua y desembocan en un receptáculo situado al final de la cinta. Esta pequeña industria puede utilizar harina industrial para tortillas o maíz integral, en cuyo caso la masa se cuece en receptáculos de grandes dimensiones (Bressani, 1990a).

La otra variante es la transformación industrial a gran escala del maíz en harina instantánea precocida para tortillas. El procedimiento, que ha sido descrito por diversos investigadores (p. Ej., Deschamps, 1985, Serna-Saldívar, 1990), se basa en el método

utilizado tradicionalmente en las zonas rurales. Más recientemente, se ha extendido el procedimiento de producción de harina a la producción de tortillas. El comprador elige el maíz tras examinar su calidad y tomar muestras. Rechaza los lotes que tienen un porcentaje elevado de granos deteriorados y paga los que acepta según los defectos que presente el material en bruto. El maíz también se selecciona según su contenido de humedad, pues si el grano tiene mucha humedad planteará problemas de almacenamiento. Durante la fase de limpieza, se eliminan todas las impurezas, como suciedad y hojas. Una vez limpio, el maíz se envía a los silos y depósitos para su almacenamiento. De ahí se transporta a las instalaciones de elaboración para su cocción en agua con cal, convirtiéndolo en nixtamal, ya sea en tandas o mediante un procedimiento de elaboración continua. Tras su cocción y macerado, el maíz tratado con agua y cal se lava con agua a presión o pulverización y se tritura hasta que forme una masa que se lleva a un secador y se convierte en harina. Dicha harina, formada por partículas de todos los tamaños, se pasa por un tamiz que separa las partículas gruesas de las finas. Las partículas gruesas regresan al molino para ser trituradas otra vez y las finas, que constituyen el producto acabado, se envían a las instalaciones de empaquetado, donde se envasan en bolsas de papel reforzado. El rendimiento industrial de la harina de maíz nixtamalizado fluctúa entre el 86 y el 95%, según el tipo del cereal, calidad de los granos enteros y las condiciones en que se realiza el tratamiento con cal. Los rendimientos industriales son más elevados que en el medio rural y en condiciones semindustriales.

La harina para tortilla es un polvo fino, seco, blanco o amarillento que tiene el olor característico de la masa de maíz. Dicha harina, mezclada con agua, proporciona una masa

adecuada para elaborar tortillas, tamales, atoles y otros alimentos. Cuando la harina tiene un contenido de humedad del 10 al 12%, es estable frente a la contaminación microbiana. Si la humedad supera el 12%, la atacan con facilidad los mohos y levaduras. El problema del ataque por bacterias es casi inexistente debido a que el mínimo de actividad acuosa que estos organismos necesitan para desarrollarse es tan elevado que, de alcanzarlo la harina, ya se habría transformado en masa. Otra cuestión que afecta la estabilidad de la harina es la rancidez, que normalmente no constituye un problema salvo que se empaquete a altas temperaturas. El tiempo mínimo para que la harina se deteriore es de cuatro a seis meses en invierno y de tres meses en verano. Por lo general, se vende al consumidor dentro de los 15 días siguientes a su venta a los comerciantes al por menor y al por mayor, mientras que su período de conservación en los anaqueles es de un mes (Del Valle, 1972).

Cambios nutrimentales durante la nixtamalización

La transformación del maíz en tortillas requiere un proceso en el que se utiliza agua, calor e hidróxido de calcio mencionados con anterioridad. Estos tres elementos influyen en la composición química del maíz elaborado, dando lugar a modificaciones en su contenido de nutrimentos. Los cambios se deben a las pérdidas materiales de grano y a las pérdidas químicas, que pueden derivar de la destrucción de algunos elementos nutritivos y de la transformación química de otros (Bressani, 1990a).

Tabla 2. Composición aproximada del maíz en bruto y de las tortillas de fabricación casera e industrial

Producto	Humedad (%)	Proteína (%)	Grasa (%)	Ceniza (%)	Fibra cruda (%)	Carbohidratos (%)	Calorías (por 100g)
Maíz							
Blanco	15.9	8.1	4.8	1.3	1.1	70.0	356
Amarillo	12.2	8.4	4.5	1.1	1.3	73.9	370
Blanco	13.8	8.3	-	1.2	-	-	-
Tortillas							
Blanco	47.8	5.4	1.0	0.8	0.7	44.5	204
Amarillo	47.8	5.6	1.3	0.8	0.6	44.4	212
Blanco	41.9	5.8	-	0.9	-	-	-
Industrial	40.5	5.8	0.9	1.1	1.4	50.3	226
Industrial	44.0	5.3	3.4	1.2	0.7	42.8	215
Industrial	45.2	5.2	3.1	1.4	1.1	41.1	206

Fuentes: Bressani et al. 1958; Cravioto et al., 1945; Ranhotra.1985; Saldaña y Brown, 1984.

Proteínas y aminoácidos. Se ha visto que la cocción con cal decremента ligeramente la digestibilidad de la proteína y la biodisponibilidad de la lisina. La digestibilidad de la proteína de la tortilla es de alrededor del 3% más baja que en el grano de maíz (Serna Saldivar et al., 1987, 1988b).

Sanderson et al. (1978) detectaron pequeñas pérdidas de arginina y cistina a causa del tratamiento en agua de cal en el maíz común y en el maíz con elevado contenido de lisina. En la masa comercial, hallaron 0.020 g de lisinoalanina por cada 100 g de proteínas, y en las tortillas 0.081 g por cada 100 g de proteínas.

Ortega et al. (1986) hallaron una pequeña pérdida de triptofano en las tortillas de maíz común (11%) y en el maíz de alta calidad proteica (15%). Bressani et al. (1990b) observó pérdidas más elevadas de ambos aminoácidos en el maíz común y en el maíz de alta calidad proteica "Nutricia" transformado en tortillas mediante procedimientos de elaboración tradicional campesina. Ortega et al. (1986) han indicado también que, dadas las pequeñísimas pérdidas de lisina del producto alcalino, probablemente había cantidades mínimas de lisinoalanina en las tortillas de maíz común y en el maíz de alta calidad proteica empleadas en su experimento.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Vitaminas. Se han reportado pérdidas de tiamina, riboflavina, niacina y caroteno que ocurrieron durante la transformación del maíz en tortillas por cocción en agua con cal. La vitamina que ha despertado la atención de diversos investigadores ha sido la niacina, por sus relaciones con la pelagra. Bressani et al. (1961) hallaron que la cubierta seminal del maíz contenía 4.2 mg de niacina por cada 100 g, mientras que en el germen y el endospermo ascendía a unos 2 mg por cada 100 g. Aproximadamente el 79.5% de la niacina del grano correspondía al endospermo y cantidades iguales del 10% al germen y a la cubierta seminal. Tras la cocción en agua de cal, el endospermo aportaba

aproximadamente el 68% del total de niacina y el germen cerca del 5.5%. Después de la cocción, se halló un 26% del total de niacina en el agua de cocción. La cantidad de niacina extraída con el agua representaba el 68.5% del total en el grano en bruto, y el 76% del total en el maíz cocido en agua de cal.

Contenido de fibras. Con el proceso de nixtamalización el maíz pierde casi todo su pericarpio y por consiguiente su fibra insoluble. Esta pérdida se relaciona con la intensidad del calentamiento y los lavados para eliminar la cal (Serna Saldivar et al., 1991).

Reinhold y García (1979), aplicando la metodología de Van Soest hallaron un aumento importante de fibra neutro detergente (FND) y de fibra ácidodetergente (FAD) en las tortillas, del 6.60 y 3.75% sobre el peso en seco, respectivamente. Dichos valores diferían radicalmente de los hallados en la masa, que eran en promedio 5.97 y 2.98%, respectivamente. No se halló diferencia alguna en lo que respecta a la hemicelulosa: la masa contenía un 3.18% y las tortillas un 2.89%. Empleando ese mismo método, Bressani

et al. (1989) hallaron un 10.8% de FND en el maíz y un 9% en las tortillas, así como un 2.79% y un 3% de FAD, respectivamente. El maíz contenía un promedio de 8% de hemicelulosa y las tortillas 6%, en tanto que los valores de la lignina eran el 0.13 y el 0.15% respectivamente.

PROBLEMA DE LA DESNUTRICIÓN

En cuanto a la clasificación de la enfermedad, en la actualidad se tiende a aceptar los términos "desnutrición", "mala nutrición", "subnutrición" o "hiponutrición" para

referirse al cuadro clínico general producido por disminución crónica del aporte de nutrimentos, así como de las pérdidas excesivas de éstos. En función del tiempo, la enfermedad lleva a una pérdida de peso en relación con la edad y a un retardo en el crecimiento (Brock, 1961).

Una proporción menor al 2% de los casos llegan a cuadros avanzados de desnutrición con pérdida muy significativa de peso, deterioro muscular, alteraciones de la piel y edema de las extremidades. Este cuadro se denomina en general desnutrición calórico-proteica. Sin embargo, en los casos graves, a veces es posible distinguir dos cuadros clínicos muy bien definidos según sea preponderante el déficit calórico y proteico o sólo el déficit proteico: el primer caso se denomina Marasmo y el segundo Kwashiorkor. En la mayoría de los casos, los dos síndromes clínicos se superponen, pero en ocasiones es perfectamente diferenciable un síndrome del otro (Brock, 1961).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

El Marasmo es una enfermedad crónica, mientras que el Kwashiorkor es relativamente aguda. El niño sometido a una dieta hipocalórica e hipoproteica llega a una situación de marasmo que, si está libre de infecciones, puede durar meses o años. Pareciera que, en cierta forma el niño se adapta a esta situación. En cambio el que estuvo sometido exclusivamente a una dieta hipoproteica y normocalórica, en menos de veinte días desencadena toda la sintomatología propia del Kwashiorkor (Gómez et al., 1957).

El Marasmo se trata de un cuadro clínico que se presenta normalmente en el primer o segundo año de vida del niño, aunque puede aparecer también en edades más avanzadas. Se caracteriza por un gran enflaquecimiento, alcanzando la pérdida ponderal al 40% o más en relación con la edad. En los estados más avanzados, el lactante adquiere cara de viejo, la piel aparece arrugada, de color pálida grisácea y seca. Además, la piel puede aparecer delgada y brillante y hasta con ulceraciones que se infectan y son difíciles de mejorar. El estado psíquico se ve afectado, aun cuando a menudo está consciente y en apariencia preocupado por el ambiente que lo rodea, rara vez está alegre y tranquilo. Por lo general se muestra irritable e intranquilo, o apático y somnoliento, y muestra gran tendencia a succionarse los dedos. Es habitual el llanto débil y monótono (a veces sin causa aparente), el pulso es muchas veces difícil de apreciar por su escasa tensión y puede hacerse fácilmente irregular. En el Marasmo, las infecciones son muy comunes y contribuyen a agravar la desnutrición, siendo casi siempre la causa de muerte (Singh, 1976).

Por otra parte, el Kwashiorkor se ve con mayor frecuencia en el lactante mayor y en el preescolar. Su causa principal es una dieta deficitaria en proteínas, lo característico es el edema (que suele acompañarse con alteraciones digestivas, como diarrea, vómitos e inapetencia). Existe un gran problema psíquico, llamando la atención la gran indiferencia a los estímulos del mundo externo y, es una actitud general, permanecer postrados sobre la cama. También son características alteraciones del cabello, resequedad de la piel, problemas del sistema circulatorio: hipotensión, disminución de la frecuencia cardíaca y tiempo de circulación prolongado, generalmente existe anemia, y diarrea permanente.

Para prevenir estos problemas normalmente se recomienda una buena alimentación que cumpla con los requisitos de ser suficiente (cubrir las necesidades nutrimentales), equilibrada (aportar proporciones adecuadas de nutrimentos), variada (incluir diversos tipos de alimentos) y libre de riesgos ecológicos (desprovista de sustancias que en forma natural o agregada impliquen riesgo para el organismo) (Hansen, 1960).

Desnutrición y desarrollo cerebral

El cerebro es la parte del sistema nervioso central de los vertebrados que está dentro del cráneo. En la especie humana pesa 1.3 kg y es una masa de tejido gris-rosáceo compuesto por millones de células nerviosas, conectadas unas con otras y responsables del control de todas las funciones mentales. Además de las células nerviosas (neuronas), el

cerebro contiene células de la glía (células de soporte), vasos sanguíneos y órganos secretores. El cerebro es el centro de control del movimiento, del sueño, del hambre, de la

sed y de casi todas las actividades vitales necesarias para la supervivencia. Todas las emociones humanas como el amor, el odio, el miedo, la ira, la alegría y la tristeza están controladas por este importante órgano. También se encarga de recibir e interpretar las innumerables señales que se envían desde el organismo y el exterior. La unidad mínima del sistema nervioso, es la célula nerviosa elemental o neurona. El sistema nervioso tiene 12,500 millones de neuronas, de las cuales unos 10,000 millones están en el propio cerebro. El cuerpo de la neurona o Soma contiene el núcleo. Se encarga de todas las actividades metabólicas y recibe la información de otras neuronas vecinas a través de las conexiones

sinápticas. Las dendritas son las conexiones de "entrada" de la neurona. Por su parte el axón es la "salida" de la neurona y se utiliza para enviar impulsos o señales a otras células nerviosas. Cuando el axón esta cerca de sus células destino se divide en muchas ramificaciones que forman sinápsis con las dendritas de otras células. Esta unión puede ser "inhibidora" o "excitadora" según el transmisor que las libere. Cada neurona recibe de 10,000 a 100,000 sinápsis y el axón realiza una cantidad de conexiones similares. La transmisión de una señal de una célula a otra por medio de la sinápsis es un proceso químico. En él se liberan sustancias transmisoras en el lado del emisor de la unión. El efecto es elevar o disminuir el potencial eléctrico dentro del cuerpo de la célula receptora. Si su potencial alcanza el umbral se envía un pulso o potencial de acción por el axón. Se dice, entonces, que la célula se disparó. Este pulso alcanza otras neuronas a través de la distribución de los axones (Winick, 1969, Winick et al., 1970, Yakovlev y Lecours, 1967).

Los científicos saben que los animales aprenden de la experiencia porque en el cerebro ocurren cambios que hacen posible que la información pueda ser adquirida, grabada y evocada. A nivel celular, estas modificaciones suceden en la sinapsis, el punto de comunicación entre neuronas. Hasta hace poco, los neurólogos creían erróneamente que los recuerdos se almacenaban dentro de las células cerebrales y que existía una especie de código bioquímico escrito en forma de moléculas de memoria. Recientes estudios revelan que las experiencias sensoriales dejan huella en el cerebro modificando la eficacia de las sinapsis entre neuronas, así como en la estructura espacial de las redes neuronales implicadas. Así pues, dependiendo del grado de activación durante la experiencia sensorial,

algunas sinapsis desaparecen, otras quedan reforzadas e, incluso, surgen nuevos contactos sinápticos (Ahmed et al., 1987).

La biología del desarrollo nos permite comprender que los circuitos neuronales básicos son parte de un plan genético, el cual es prácticamente inmodificable, a excepción de desnutrición grave de la madre o estrés. Así, los más relevantes quedan fijados desde los momentos más tempranos de la vida. Sin embargo, en el ámbito de las sinapsis las cosas son muy diferentes, allí no existen los absolutos. Los axones y las dendritas modifican su morfología y fisiología, dependiendo de la relación que tengan con el medio y con las células cercanas. Esta plasticidad en el sistema nervioso fue observada hace 50 años por Hebb (1950), quien propuso que la supervivencia de un terminal sináptico (y por ello de la o las neuronas que lo forman) depende si no en su totalidad, al menos en parte de su continua estimulación. Se ejemplifica fácilmente como “uso y desuso”. Ahora bien, para que acontezcan estos cambios en el sistema nervioso es obligatoria la existencia de un fenómeno que los biólogos conocen como plasticidad cerebral. Bliss y Lomo (1973) descubrieron que las neuronas del hipocampo tenían una gran plasticidad, conocida como potenciación a largo plazo y comprobaron que la estimulación eléctrica durante algunas decenas de milisegundos de una vía nerviosa que desembocara en el hipocampo de un animal adulto provocaba un aumento de la eficacia de la transmisión nerviosa y modificaba la sinapsis de este circuito durante algunas semanas e incluso meses.

Existe una larga historia que relaciona la alimentación o falta de ella, en la capacidad intelectual y de comportamiento del ser humano. A finales del siglo XIX en EUA la compañía Quaker Oats creó el lema “Somos los que comemos”. Este lema surgió al realizar un estudio en Nueva York y Chicago llegando a la conclusión que en los hogares que no consumían suficiente avena se incrementaba los casos de anemia, baja capacidad mental, nerviosismo y bajo rendimiento escolar de los niños. Ellos encontraron que en *“Boston consumen 22 veces más avena per capita que otros estados de inteligencia menor al promedio... la avena contiene fósforo que es el elemento más importante en la estructura del cerebro”* (Quaker Oats Co., 1898)

Spargo (1906) menciona los efectos de la pobreza en el desarrollo de los niños, adelantando varias ideas acerca de enfermedades, debilidad física y baja *“estamina”* mental de estos niños, todo esto soportado sobre bases empíricas.

La Socióloga Rusa Pitirim A. Sorokin observando el comportamiento de mujeres rusas entre 1919 a 1921 escribió un tratado sobre los efectos del hambre en la dinámica social. Su libro publicado en 1922 fue inmediatamente censurado y no fue publicado hasta 1975 (Sorokin, 1975).

Gracias a los avances de la experimentación bioquímica, durante los años 60s, un grupo de investigadores se enfocaron en el estudio de las repercusiones de la desnutrición en la capacidad intelectual, el argumento que se trabajaba era de que la desnutrición

temprana no sólo reducía el tamaño del cerebro, sino que lo dejaba así para el resto de la vida. Este fenómeno se observó en ratas (Chase et al., 1967; Culley y Lineberger 1968; Smart et al., 1973; Winick y Nobel 1966; Zamenhov et al., 1971).

Las enfermedades nutrimentales que afectan el desarrollo mental se relacionan a dos condiciones:

a) la deficiencia global de nutrimentos, en la mayoría de los casos asociada a un ambiente de pobreza, y

b) a la deficiencia de nutrimentos específicos.

En los niños, la desnutrición proteico-calórica tiene un efecto devastador en el crecimiento corporal y, si bien hay amplia evidencia de su efecto nocivo en el desarrollo neurológico a varios niveles, todavía se desconoce cual es su grado exacto de impacto en el desarrollo intelectual y conductual. Se ha documentado que el cerebro humano tiene un periodo de aceleración que se extiende desde la trigésima semana de gestación hasta, por lo menos, el final del segundo año de vida. Durante este lapso, si las condiciones no son adecuadas para el crecimiento y el desarrollo normal del cerebro, existe una alta probabilidad de riesgo de daño permanente. Los nutrimentos específicos más importantes que se deben considerar en los trastornos nutricionales que afectan el desarrollo cerebral son la cantidad y calidad de las proteínas y las vitaminas, más específicamente, las vitaminas del

complejo B (tiamina, ácido nicotínico, piridoxina, ácido pantoténico, riboflavina, ácido fólico y cobalamina) (Adams y Ropper, 1997).

Los daños al sistema nervioso central causados por las formas severas de desnutrición mencionadas anteriormente (Marasmo y Kwashiorkor) se pueden demostrar clínicamente por signos y síntomas neurológicos como apatía, irritabilidad, debilidad muscular, hipotrofia, ansiedad, fatiga crónica, hipotonía, hipo e hiperactividad, déficit de atención y bajo rendimiento escolar (Chopra, 1993). La biopsia del nervio sural en niños con déficit proteico-calórico severo revela la persistencia de fibras mielinizadas de bajo calibre, falla en la elongación internodal y desmielinización segmentaria significativa. Así mismo, se han observado múltiples alteraciones neurales a nivel histológico, electrofisiológico, bioquímico y conductual en sujetos animales y humanos que presentan las formas severas de desnutrición (Chopra, 1992).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

La falta de nutrimentos durante las etapas críticas prenatales o postnatales resulta en alteraciones en la histogénesis de los tejidos nerviosos (Bernochi y Scherini, 1980). Se han reportado anomalías en la neurogénesis, siendo especialmente vulnerables las células madres. Estas anomalías causadas por el déficit proteico-calórico en la gliogénesis, migración celular, diferenciación celular y formación de circuitos neuronales en los períodos críticos de desarrollo podrían tener un gran impacto en la plasticidad cerebral de los sujetos desnutridos (Davies y Katz, 1983; Morgane et al., 1992). Se han descrito desórdenes en la sinaptogénesis (Ahmed et al., 1987), lo que aunado a los otros daños

podría resultar en la alteración de la organización de vías y circuitos, lo cual podría tener como consecuencia deficiencias conductuales y del aprendizaje (Altman 1986, 1987).

El proceso de mielinización también es alterado durante la desnutrición. En humanos, se han reportado disminuciones en la cantidad de proteolípidos, cerebrósido, sulfatidos y plasmalógeno en la sustancia blanca, así como celularidad anormal en diferentes sitios del cerebro. Una gran cantidad de datos obtenidos en animales sugieren una reducción severa en la concentración de mielina cerebral debido a la desnutrición (Fuller et al., 1984; Krigman y Hogan, 1976; Reddy y Horrocks, 1986; Wiggins, 1982; Yeh, 1988).

La desnutrición puede causar reducciones en el peso y tamaño del cerebro (Katz y Davies, 1983). Desde el punto de vista histológico, se ha observado una reducción en el número de neuronas (Winick, 1966, 1969; Zamenhof et al., 1968; Zamenhof, 1985). Se han descrito alteraciones en la proporción de neuronas que interactúan y en la proporción de neuronas y sinapsis en el giro dentado (Ahmed et al., 1987). El número de sinapsis está disminuido, y hay alteraciones en las espinas dendríticas, en la arborización dendrítica y en el proceso de deshacerse de las sinapsis redundantes en diferentes sitios de la corteza y del hipocampo, así como en las propiedades dinámicas de la transmisión sináptica (Brock y Prasad, 1992; Cintra et al., 1990; Cordero et al., 1985; Davies y Katz, 1983; Gundappa y Desiraju, 1988; Hernández, et al., 1985; Medvedev et al., 1983; Schonheit y Haensel, 1988). También se ha reportado disminución en el diámetro del axón de las fibras en ratas

desnutridas, especialmente en el tracto corticoespinal (Delaney et al., 1981; Sima y Sourander, 1976, 1978). Esta reducción podría ser el resultado de una pérdida selectiva de las fibras más anchas o una disminución en sus diámetros.

Es interesante hacer notar que hay órganos específicos que presentan alteraciones por desnutrición. Se han descubierto, por ejemplo, reducciones en la eliminación de sinapsis redundantes en el núcleo rafe dorsal, locus coeruleus y corteza visual y otras alteraciones en el hipocampo (especialmente en giro dentado), tractos motores y sensitivos (Ahmed et al., 1987; Díaz-Cintra et al., 1981, 1984, 1990; Jordan et al., 1981, 1982).

El músculo también presenta alteraciones secundarias a la desnutrición. En monos *rhesus* desnutridos, hay obliteración de estrias cruzadas, alteraciones en las bandas Z, aumento de los espacios interfibrilares, mitocondromegalias y fibras pequeñas para la edad (Chopra y Sharma, 1992).

El desarrollo de varias funciones neurológicas sufre retardos y alteraciones cualitativas en ratas y humanos desnutridos. El desarrollo locomotor es un ejemplo. Ratas desnutridas en las etapas pre- y postnatales adquieren una marcha tipo adulto después de los 15 días de vida postnatal, a diferencia de los controles que la alcanzan a los 13 días. Además, la marcha se mantiene torpe y ligeramente anormal hasta el día 30 (Gramsbergen y Westerga, 1992). Algunos estudios con ratas desnutridas revelaron atrasos en el

desarrollo de reflejos motores (Gramsbergen y Westerga, 1992; Salas, 1972; Smart y Dobbing, 1971). Es interesante correlacionar estas observaciones con aquellas realizadas en niños pequeños para su edad gestacional, los cuales han cursado con desnutrición prenatal. Estos niños presentan una postura en miembros superiores de flexión más acentuada que los niños con pesos adecuados para su edad (Van Kranen-Mastenbroek et al., 1993). Hay reportes de que la desnutrición postnatal resulta en retrasos significativos en el acondicionamiento pavloviano a estímulos visuales en ratas (Rudy y Castro, 1990).

Bioquímicamente, la desnutrición puede causar déficit en la cantidad de ADN, fosfolípidos, esfingomielina, proteínas nucleares y otros componentes del sistema nervioso de ratas y hay evidencia de alteraciones en su síntesis (Goncalves et al., 1990; Larocca, et al., 1985; Melcangi et al., 1989; Pedrosa et al., 1987; Reddy y Horrocks, 1986; Salbego y Souza, 1986; Yusuf et al., 1981). También se han reportado alteraciones en el contenido de mielina y de células gliales, aún en niños (Martínez, 1982). El colesterol, fosfolípidos, ARN y ADN están disminuidos en los cerebros de niños que murieron por Marasmo (Rosso et al., 1970; Winick et al., 1970). Además, se han reportado alteraciones en los niveles de algunos neurotransmisores, como son glutamato, serotonina, acetilcolina, opiáceos, GABA y norepinefrina (Chen et al., 1992; Morgane et al., 1978; Rathbun y Druse, 1985; Smart et al., 1976).

En la relativamente nueva rama de investigación llamada neuroinmunología, tenemos también evidencia de la alteración que produce la desnutrición. Se sabe que la

desnutrición proteico-calórica causa depresión inmune con aumento en la frecuencia y severidad de las infecciones. Se ha reportado que la hiperactividad central noradrenérgica secundaria a la desnutrición podría ser responsable de la depresión inmune, especialmente en la respuesta celular, a nivel de ratas (Schlesinger et al., 1995).

Electrofisiológicamente, se han detectado varias anormalidades en sujetos desnutridos. En ratas se reportaron una velocidad de conducción motora disminuida y reducción en la excitabilidad de las fibras (Quirk et al., 1995). Otros estudios demostraron conducción disminuida en los sistemas somatosensoriales, auditivos y visuales de ratas desnutridas por déficit proteico-calórico o con deficiencias vitamínicas específicas (Claus et al., 1984; Kawai et al., 1989; Wiggins et al., 1982).

En niños desnutridos, se han reportado cambios en los electroencefalogramas (Osontokun, 1971), en la velocidad de conducción periférica (Singh et al., 1976), en la conducción a través de la vía auditiva (utilizando potenciales evocados de tallo cerebral - BAEP), (Bartel et al., 1986) y una conducción motora prolongada (utilizando estimulación electromagnética transcraneal de la corteza motora), (Tamer et al., 1997). Todavía no está claro como las alteraciones antes mencionadas podrían modificar a los sujetos desde el punto de vista conductual. Estudios han reportado alteraciones en la capacidad adaptativa y de respuesta (tiempo de escape a agentes dañinos, por ejemplo) en animales desnutridos, así como prolongaciones en el tiempo de aprendizaje de conductas condicionadas aún después de la rehabilitación nutrimental (Almeida et al., 1996), los cuales podrían conducir a

conductas sociales y de socialización alteradas. Se han reportado déficit del aprendizaje y memoria, los cuales se han correlacionado con cambios anatómicos en la formación hipocampal después de desnutrición pre- y postnatal en animales (Jordan et al., 1981, 1982). Alteraciones conductuales relacionadas a la disminución de serotonina por desnutrición incluyen déficit en el aprendizaje espacial y a la incapacidad de extinguir o de reaprender tareas en ratas (Mazer et al., 1997).

Investigaciones en América Latina, África y Estados Unidos han demostrado que niños desnutridos tienen un menor Coeficiente Intelectual que niños normales del mismo nivel socioeconómico (Brown y Pollit, 1996). El tiempo de reacción visomotor en niños desnutridos se ha reportado aumentado en varios estudios, además, existe evidencia de déficit en atención, trastornos del aprendizaje y de la memoria (Altman, 1986, 1987; Jordan et al., 1981, 1982). Los niños desnutridos no exploran adecuadamente su ambiente en situaciones novedosas, demostrando inhibición o actividades sin objetivos (Barrett y Frank, 1987). Un estudio con niños desnutridos en Filipinas mostró puntajes inferiores a niños controles en tareas motoras y preceptuales (Reyes et al., 1990). En la India, un estudio utilizando tareas de desarrollo cognitivo mostró un rendimiento más bajo en niños desnutridos que controles, aún controlando variables socioeconómicas (Agarwal et al., 1989). También es de hacer notar que la desnutrición podría resultar en alteraciones visuales, las cuales podrían ser las responsables de las alteraciones neurointegrativas y de percepción observadas (Solan y Mozlin, 1997). La desnutrición global no es la única que afecta las funciones cognitivas, por ejemplo el déficit de iodo, hierro y ácidos grasos también pueden afectar las funciones cerebrales superiores (Kretchmer et al., 1990).

La desnutrición en los niños no produce un síndrome neurológico definido. Sin embargo, la evidencia anteriormente enunciada ha hecho pensar a muchos investigadores que la desnutrición en etapas tempranas del crecimiento afecta el sistema nervioso hasta llevarlo a un desarrollo subóptimo permanente, incluyendo importantes alteraciones de su plasticidad y del aprendizaje (Morgane et al., 1993). El impacto social de estas secuelas sobre las naciones menos desarrolladas podría ser muy severo.

Fortificación y enriquecimiento de alimentos

Estos dos términos, aunque con matices diferentes, se emplean generalmente como sinónimos y se utilizan indistintamente para indicar que a un alimento o producto alimenticio se le han añadido algunos nutrimentos, especialmente vitaminas o minerales para restaurar o aumentar su valor nutricional. Algunos procesos tecnológicos, como el refinado de las harinas y de los cereales en general, provocan importantes pérdidas de minerales y vitaminas con respecto al contenido del grano entero. También, la eliminación de la grasa de muchos alimentos para reducir su valor calórico, conlleva la pérdida de las vitaminas liposolubles, como la A o la D. Por ello, mediante el *enriquecimiento* se restauran o incluso se superan los niveles iniciales de los nutrimentos perdidos durante la manipulación del alimento. El término *fortificación*, sin embargo, se aplicaría a aquellas situaciones en las que se añade un determinado nutrimento a un alimento que originalmente carecía de él. La adición de yodo a la sal de mesa sería un buen ejemplo de fortificación. Un aspecto importante es elegir el alimento idóneo y los nutrimentos a añadir. Respecto al

primero, aparte de los problemas que pueden surgir desde el punto de vista tecnológico, es imprescindible que el alimento escogido forme parte de los hábitos alimentarios del grupo al que va destinado. Por ejemplo, un alimento muy útil para añadir vitaminas liposolubles es la margarina. Sin embargo, en los grupos de población en los que no se consume habitualmente, la fortificación de la margarina puede ser totalmente ineficaz si finalmente no se consume; por el contrario, la leche sería un alimento ideal para fortificar en ciertos nutrientes, especialmente aquellos dirigidos a los niños. Los cereales también se usan ampliamente como vehículo de vitaminas hidrosolubles y minerales. Por otra parte, los nutrientes elegidos deberán ser también aquellos para los que se haya constatado una carencia nutricional entre la población. Evidentemente, no tendría sentido añadir un nutriente para el que no se han observado deficiencias (Schrimshaw y Altschul, 1999).

Por su alto consumo en México, las tortillas de maíz se pueden utilizar como vehículo para disminuir o abatir el problema de mala nutrición proteica y de micronutrientes. Su valor nutricional puede mejorar mediante la fortificación proteica, utilizando maíz alto en lisina, (Bressani y Marengo, 1963; Bressani et al., 1968, 1974, 1979; Del Valle y Pérez-Villaseñor, 1974; Serna-Saldivar et al., 1988a, 1988b; Sproule et al., 1988) y añadiendo soya y/o enriqueciendo con vitaminas y minerales (Bressani y Marengo, 1963; Muñoz de Chávez y Chávez, 1997; Reinhold et al., 1984; Serna-Saldivar, 1996a). La proteína de la soya en sus varias modalidades es el producto más indicado para la fortificación proteica de la tortilla de maíz debido a su bajo costo, alta producción en el ámbito mundial, alto contenido proteico y su efecto complementario con el perfil de aminoácidos del maíz. La soya es la oleaginosa de mayor importancia en el mundo y también en México (Serna-Saldivar, 1997).

Estudios de fortificación de tortillas: El valor nutrimental de tortillas regulares y fortificadas fue estudiado por el Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán durante dos años en dos diferentes poblados del Estado de Querétaro (Muñoz de Chávez y Chávez, 1997).

Se eligieron familias que tenían por lo menos un niño menor de 5 años de edad en los poblados de El Rincón y Yosphi, Querétaro. Estos poblados de origen Otomí se eligieron por su pobreza y su alto consumo de tortillas (645g/día en El Rincón y 539g/día en Yosphi en promedio). Un total de 125 familias de El Rincón y 145 familias de Yosphi participaron en las pruebas donde en El Rincón recibieron harina nixtamalizada de maíz fortificada y Yosphi recibió harina nixtamalizada de maíz regular. La harina se distribuyó dependiendo del tamaño de la familia a razón de 350 a 400 g/persona al día, teniendo buena aceptación ambas harinas sin diferencia significativa en cuanto atributos organolépticos.

Los niños que se alimentaron con tortillas fortificadas crecieron 49% más que sus contrapartes alimentadas con tortillas regulares en el primer año. En los meses de mayo y junio que empezó la temporada de lluvias las comunidades sufrieron una epidemia de Diarrea y Sarampión y se observó que los niños alimentados con tortillas regulares se enfermaron más que los niños alimentados con tortillas fortificadas.

En cuanto a la nutrición de los adultos al iniciar las pruebas, la comunidad de El Rincón presentaba el 13.1% de las mujeres con mala nutrición (índice de masa corporal menor a 17 kg/m²) y el 28.3% con bajo peso (índice de masa corporal de a 17 a 20 kg/m²).

En contraste la comunidad de Yosphi presentaba 0% de las mujeres como malnutridas y el 23.2% con bajo peso. Después de 5 meses recibiendo la harina fortificada en la comunidad de El Rincón desaparecieron las mujeres malnutridas y al cabo de 10 meses el porcentaje de mujeres con bajo peso era igual en las dos comunidades (alrededor del 21%).

En pruebas clínicas realizadas en un año se observó que los que consumieron tortillas fortificadas mejoraron la condición de su cabello, uñas y piel. Se mejoró las anomalías del cabello del 82 al 33%, uñas del 71 al 39% y piel del 65 al 21%. En cuanto a los que consumieron tortillas regulares no obtuvieron alguna diferencia significativa.

En cuanto a los niveles de hierro en la sangre, los niños de preescolar alimentados con tortillas fortificadas incrementaron del 11.7 al 12.7 g/dL los niveles de hierro en sangre y los niños en edad escolar del 12.6 al 14.2 g/dL. En la comunidad control no se encontraron diferencias significativas. El contenido de ácido fólico y vitamina B₁₂ casi se duplicó en la comunidad de El Rincón (de 2.7 a 5.2 ng/mL de ácido fólico y 108.6 a 209.2 pg/mL de vitamina B₁₂), mientras que en la comunidad control no existieron diferencias significativas. Por último se observó que la concentración de creatina aumentó un 44% en la comunidad de El Rincón, mientras en el control permaneció constante. Como se considera que la concentración de creatina en la orina es proporcional a la masa muscular magra (músculo), esto nos da una idea que las tortillas fortificadas ayudaron a formar masa muscular.

Determinación de la calidad proteica de alimentos

Normalmente se consideran dos pruebas para determinar la calidad de las proteínas de un alimento considerando sus aminoácidos.

Perfil de aminoácidos: Se determina químicamente la cantidad de cada aminoácido esencial de las proteínas del alimento, sin considerar la digestibilidad o la utilización de la proteína dentro del cuerpo. Este perfil de aminoácidos no refleja la biodisponibilidad de la proteína en el cuerpo, sin embargo, esta prueba es importante ya que muestra los aminoácidos presentes en la proteína y podemos detectar desde aquí el faltante de algún aminoácido de importancia para el estudio.

Valor de aminoácidos esenciales: Con esta prueba podemos identificar a los aminoácidos limitantes para determinar la calidad proteica de un alimento, lo cual es muy útil para comparar a los alimentos nutritivamente. Este valor se calcula comparando el nivel de aminoácidos presentes en la proteína del alimento estudiado con el nivel de aminoácidos de una proteína de referencia que teóricamente es nutricionalmente ideal para un grupo de población. El valor de aminoácidos toma el aminoácido esencial de menor cantidad en la proteína como referencia para determinar su calidad, usando la siguiente fórmula:

Valor de aminoácidos esenciales = $\frac{\text{Contenido de A.A. esencial de menor valor (mg/g proteína)}}{\text{Contenido del mismo A.A. en la proteína de referencia (mg/g proteína)}}$

Este valor como el anterior no considera la digestibilidad ni la utilización de la proteína dentro del cuerpo. Para considerar estos aspectos es necesario hacer pruebas biológicas con animales de laboratorio o inclusive con humanos.

Pruebas biológicas (*in vivo*)

Para determinar la calidad de proteína de un alimento es necesario hacer pruebas en animales de laboratorio para determinar la digestibilidad y utilización de la proteína en su cuerpo y así hacer extrapolaciones hacia el ser humano. Normalmente se realizan las siguientes determinaciones:

Digestibilidad aparente de proteína: Se busca encontrar qué tanto de la proteína consumida del alimento estudiado entró al cuerpo. Para esto se alimenta el animal con el alimento a estudiar y se recolecta las heces durante un periodo de tiempo. Al final se determina la cantidad de proteína que el animal consumió y la que perdió en las heces mediante una prueba de cantidad de nitrógeno y se determina el % de nitrógeno que se absorbió usando la siguiente fórmula:

$$\text{Digestibilidad aparente de proteína} = \frac{[\text{Nitrógeno ingerido} - \text{Nitrógeno fecal}]}{\text{Nitrógeno ingerido} \times 100}$$

Valor biológico (VB): Esta prueba determina la calidad de una proteína considerando las pérdidas que se tienen en la orina y heces en animales de laboratorio. Si la proteína que tiene el alimento no tiene un contenido de aminoácidos esenciales adecuado, el cuerpo desechará gran cantidad de nitrógeno por la orina. Para esto se determina con la fórmula:

$$\text{Valor Biológico (VB)} = \frac{[\text{Consumo de alimento (\%N)} - \text{heces (\%N)} - \text{orina (\%N)}]}{\text{Consumo de alimento (\%N)} - \text{heces (\%N)}} \times 100$$

Utilización neta de proteína (NPU): Esta prueba considera la evaluación de la digestibilidad de la proteína así como el contenido de aminoácidos esenciales. La fórmula que se utiliza es:

$$\text{Utilización neta de proteína (NPU)} = \frac{(\% \text{ de digestibilidad de proteína}) (\% \text{VB})}{100}$$

Relación de eficiencia proteica (PER): Representa el aumento de peso del cuerpo del animal estudiado dividido entre los gramos de proteína consumida. Esto nos da una idea global de la calidad de proteína, para esto se utiliza la fórmula:

$$\text{PER} = \frac{\text{g de peso ganado}}{\text{g de proteína consumida}}$$

Dos grupos de ratas son usadas las cuales consumen 10% de proteína en sus dietas, un grupo consume la proteína estudiada y el otro la proteína de referencia (normalmente caseína). Normalmente el PER del grupo control se ajusta a 2.5 y del grupo estudiado se hace el mismo ajuste usado en el grupo de referencia, esto permite comparar pruebas de distintos laboratorios.

Valor del aminoácido esencial limitante corregido por digestibilidad de proteína (PDECAAS): Se considera el valor del aminoácido limitante de la proteína estudiada y la digestibilidad de esta proteína, para esto la fórmula utilizada es:

$$PDECAAS = (\text{Valor del aminoácido limitante}) (\text{Digestibilidad verdadera de proteína}) / 100$$

Este método utiliza como referencia los aminoácidos necesarios para niños de 2 a 5 años (el grupo más demandante) y ha desplazado al PER como el mejor método para evaluar la calidad proteica de un alimento (FAO/WHO, 1990).

Pruebas para determinar la memoria de corto plazo, memoria de largo plazo, memoria de trabajo y desempeño de aprendizaje en modelos animales

Sin memoria no podemos aprender y sin aprender no podemos vivir. Si el organismo no acumulase experiencias en la memoria, para recordarlas en las nuevas situaciones (proceso al que llamamos aprendizaje) no podría utilizar ningún medio que lo protegiese del peligro ni podría alcanzar los medios de obtener satisfacción. La memoria involucra algunos procesos que nos permiten registrar (codificación), retener (almacenamiento) y evocar (recuperación) la información. Cada uno de estos procesos es diferente y tiene también funciones diferentes. La codificación es el proceso mediante el cual registramos inicialmente la información, de manera tal que nuestro sistema de memoria la pueda utilizar. El hecho de que exista cierta información que no podamos evocar en un momento determinado puede deberse a dos razones: que nunca hayamos sido expuestos a esa información y, en consecuencia, es imposible que la hayamos podido registrar; o que dicha información no haya sido codificada inicialmente; es decir, no haya

sido registrada de manera significativa. Otro de los procesos del sistema de memoria es el almacenamiento. Este proceso consiste en guardar la información en la memoria y conservarla hasta que la necesitemos. Si la información no es almacenada, es obvio que no podrá ser evocada. El último proceso es la recuperación. Este proceso nos permite localizar la información que tenemos almacenada en la memoria cuando queremos utilizarla. Sólo podremos evocar aquella información que ha sido codificada y almacenada. Por lo tanto, sólo si se dan los tres procesos, seremos capaces de recordar (Atkinson y Shiffrin, 1968).

Aunque los procesos de codificación, almacenamiento y recuperación son necesarios para que la memoria funcione, no describen que es lo que pasa con la información desde que llega a nuestros sentidos hasta que la guardamos en nuestro almacén. Algunos investigadores, que se han dedicado a estudiar el sistema de la memoria, sugieren que esta información pasa por diferentes niveles de procesamiento (Craik y Lockhart, 1972), mientras que otros señalan que existen tres tipos de almacenamiento en la memoria y que éstos varían en cuanto a sus funciones y al tiempo que retienen la información (Atkinson y Shiffrin, 1968).

Memoria de corto plazo (MCP): es un tipo de memoria que almacena cantidades limitadas de información por períodos breves. Si las unidades de información que se almacenan en este tipo de memoria no reciben un procesamiento cuando llegan a él, desaparecerán, aproximadamente, entre quince y veinticinco segundos. Un ejemplo simple puede ser un número de teléfono que buscamos en nuestra libreta y que mantenemos en la

memoria para utilizarlo por tan sólo unos pocos segundos mientras hacemos la llamada y luego desaparece. La memoria de corto plazo no sólo tiene limitaciones en cuanto al tiempo de duración del almacenamiento de la información (entre 15 y 25 segundos) sino que, además, tiene limitaciones en su capacidad. Es decir, sólo podemos almacenar en ella cierta cantidad de información y no más; es como si fuera una caja en la cual queremos guardar un objeto que no cabe porque el objeto es más grande que el espacio de la caja. Estudios realizados (Miller, 1956) han encontrado que la capacidad de almacenamiento de este tipo de memoria es, básicamente, de siete unidades de información, pero que puede variar entre cinco y nueve unidades. La memoria a corto plazo se puede concebir como una de las etapas en la secuencia de procesamiento de información, en la cual el material recibido debe ser atendido por nosotros con el fin de trabajarlo mediante procesos de agrupamiento, ensayo o elaboración, para poderlo almacenar posteriormente en la memoria de largo plazo.

Memoria de largo plazo (MLP): es el último almacén de nuestro sistema de memoria. En él guardamos la información recibida a través de los sentidos la cual, al ser elaborada en nuestra memoria de corto plazo, puede ser transferida a este tipo de memoria. La MLP es ilimitada, no sólo en cuanto al período de duración de la información en él, sino también en cuanto a su capacidad, es decir, la cantidad de unidades o grupos de información que podemos almacenar. En la MLP tenemos almacenados los conceptos y las asociaciones o relaciones que existen entre ellos. Los conceptos pueden ser objetos percibidos (por ejemplo, canario), rasgos de conceptos (por ejemplo, amarillo, rojo, cuadrado, redondo), relaciones entre conceptos (por ejemplo, arriba, debajo, delante) o conceptos de alto nivel (por ejemplo, familia, sabiduría, paz), (Shen et al., 1994).

Memoria de trabajo (MT): Es una función del lóbulo frontal del cerebro. Es la habilidad de mantener información ya procesada en la memoria de corto plazo, durante un corto período de tiempo en primer plano, mientras se lleva a cabo el procesamiento de la nueva información que va llegando al sistema, al mismo tiempo que se recupera información de la memoria de largo plazo, y se reconoce nuevo material. Esto nos permite comparar la información nueva con lo que ya poseemos sobre un tema. La memoria de trabajo está compuesta por dos sistemas, uno ejecutivo y otro subsidiario. El sistema ejecutivo actúa como procesador de la información que nos ingresa, mientras que el sistema subsidiario almacena los datos. Por ejemplo cuando hacemos cálculos aritméticos el sistema ejecutivo recuerda el tipo de operación aritmética (suma, resta, etc.) que hay que realizar mientras que el sistema subsidiario almacena los números que vamos obteniendo. Es importante destacar que el funcionamiento de estos sistemas debe ser simultáneo, y que la memoria de trabajo tiene una capacidad limitada, que tiene que ser compartida por la información que está siendo procesada y el almacenamiento de los datos. Si el sistema ejecutivo ocupa más espacio de trabajo, menos lugar o capacidad habrá para que el sistema subsidiario almacene datos. La memoria de trabajo es fundamental en el ser humano para la lectura, porque el lector debe decodificar y/o reconocer palabras mientras recuerda aquellas que ya leyó. Es necesario retener y mantener el sentido de las palabras, y sostener el hilo temático, para poder comprender las ideas; en caso contrario, el proceso de comprensión se interrumpe. Al leer un texto debemos extraer las relaciones semánticas y sintácticas entre las palabras sucesivas, y recordar el sentido de las frases que ya se han leído, para llegar a captar el significado global del texto (Atkinson y Shiffrin, 1968).

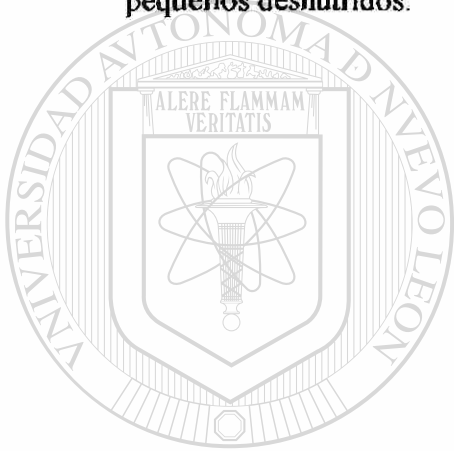
0145973

Desempeño de Aprendizaje (DA): En un experimento con ratas a las que se les colocaba en un laberinto a la salida del cual había una caja con alimento, se observó que la rata efectuaba movimientos totalmente inadecuados hacia adelante y atrás, a derecha e izquierda, al azar por completo. Todas estas idas y venidas frustraron los movimientos de ensayo y error y sólo un movimiento correcto habría de conducir a la salida, no sólo hacia la libertad sino también al alimento, es decir, a un objeto satisfactorio. Mediante repeticiones el movimiento acertado llegó a fijarse y las reacciones inadecuadas fueron eliminadas gradualmente. Así, el proceso de aprendizaje de la rata podría ser explicado mecánicamente, por azar y fijación.

Por mucho tiempo los laberintos se han utilizado para estudiar diversos aspectos del aprendizaje. En los últimos años cada vez más se ha utilizado el laberinto de agua o de Morris para analizar la memoria y el aprendizaje en ratas. Este laberinto el cual consiste en una piscina circular con agua teñida y una plataforma oculta, en la cual la rata se introduce y se deja nadar hasta encontrar la plataforma tiene la ventaja sobre otros laberintos ya que la rata tiene que estar en constante movimiento y no puede seguir rastros de olores (Morris, 1981).

Los experimentos con animales han hecho comprensibles ciertos mecanismos del aprendizaje, pero no han revelado su proceso más íntimo. Es muy arriesgado utilizar las

relaciones de los animales para explicar las funciones humanas, especialmente en la suposición de que los actos de los animales son básicamente de la misma clase que los humanos. Sin embargo algunos autores han logrado correlacionar ciertas variables del comportamiento animal al comportamiento humano. Gramsbergen y Westerga (1992) relacionaron el tamaño del cerebelo y su contenido de ADN con el desempeño motor y de memoria de trabajo en ratas de laboratorio, Pollit et al. (1993) relacionó estas deficiencia motoras y de memoria con la habilidad de lectura y escrito en niños pequeños desnutridos.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima

Se utilizó maíz de alta proteína (QPM), y maíz regular cosechados en Jalisco y Mérida durante el ciclo 2000. Estos maíces fueron nixtamalizados siguiendo el proceso tradicional en la planta Monterrey de MASECA. Las tortillas de masa regular (TMR) se compraron en la tortillería La Provincial.

La harina del maíz para elaborar las tortillas regulares enriquecidas (TRE) y para elaborar las tortillas QPM enriquecidas (TQPME) se les agregó 5 mg/kg de vitamina B₁, 3 mg/kg de B₂, 35 mg/kg de niacina, 2 mg/kg de ácido fólico, 30 mg/kg de hierro y 20 mg/kg zinc. La harina para elaborar las tortillas enriquecidas y fortificadas con soya (TSYE) se enriqueció de la misma manera a las anteriores y se le agregó 60 g de harina de soya desengrasada a 940 g de harina para fortificarla, resultando con 6% en peso de harina de soya. La harina para elaborar tortillas QPM enriquecidas y fortificadas con soya (TQPMSYE) se enriquecieron de la misma manera y se les agregó 30 g de harina de soya desengrasada a 970 g de harina, obteniendo una harina final con 3% en peso de harina de soya.

Las tortillas se elaboraron en la Planta Piloto de MASECA en donde 20 kg de harina fue hidratada aproximadamente con 24 litros de agua y amasados por 4 minutos en una amasadora Tecномаíz. Posteriormente la masa fue alimentada a una tortilladora Rodotecn la cual se les calibró sus rodillos para obtener la masa en forma de tortillas de aproximadamente 35 g. La masa formada fue horneada en un horno de tres pasos con

quemadores de gas a una temperatura promedio de 300 °C por 35 segundos aproximadamente. Las tortillas de masa fresca se elaboraron en el establecimiento comercial cociendo 20 kg de maíz con 250 g de cal y 60 litros de agua entre 90 a 100 °C por una hora. Se dejó remojar toda la noche (18 horas) y se le dio un lavado para eliminar el pericarpio y el exceso de cal con un chorro de agua a temperatura ambiente. Se drenó el agua y se molió la masa en un molino de piedra volcánica. La masa resultante se moldeó y se coció en una maquina tortilladora (sin marca) a una temperatura de 220 a 240 °C por 1 minuto aproximadamente.

Elaboración de las dietas

Se elaboraron las dietas de acuerdo a datos proporcionados por investigadores del Instituto Nacional de Nutrición Salvador Zubirán (Tabla 1) quienes encuestaron a indígenas Otomíes sobre el consumo diario de alimentos (Muñoz de Chávez y Chávez, 1997). Estos datos se utilizaron para extrapolar la dieta típica de un indígena mexicano a la dieta de ratas.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tabla 3. Composición típica de la dieta Otomí (peso seco)

ALIMENTOS	% (peso seco)
Tortillas de Maíz	73.6
Frijol	3.46
Nopal	2.09
Pasta	1.10
Pan	1.36
Papa	0.24
Arroz	0.08
Leche	1.12
Carne	1.13
Huevo	0.61
Jitomate	0.26
Chile	0.39
Otras Verduras ¹	0.14
Frutas ²	0.11
Aceite y Manteca ³	2.86
Azúcar	11.45

¹ 1:1 Cebolla y zanahoria.

² 1:1:1 Plátano, papaya y calabacitas

³ 2:1 Aceite vegetal y manteca de cerdo

Las tortillas y todos los ingredientes húmedos de la formulación fueron deshidratados en un horno de convección Electrolux a 60 °C por tiempos variables hasta alcanzar humedades inferiores del 2% en base húmeda. Posteriormente las tortillas fueron molidas en un molino Wiley con malla de 2 mm. de apertura. El resto de los otros ingredientes fueron molidos en un molino Moulinex.

Los ingredientes secos se pesaron y se mezclaron en una batidora Hobart por 3 minutos a velocidad media. Terminada la homogenización se procedió agregar lentamente el aceite y la grasa previamente fundida, mezclándose por 5 minutos adicionales. Finalmente las dietas fueron almacenadas en bolsas de polietileno, selladas y congeladas a -5 °C para su posterior uso. Las dietas se ofrecieron en forma de polvo a los animales en

crecimiento y en forma de pellets a las madres en gestación y lactación. Los *pellets* se elaboraron agregándole 12 g de bentonita a 1 kg de la dieta en polvo, posteriormente se le agregó 1 L de agua por cada 7 kg de alimento. La bentonita y el agua se agregaron en una batidora Hobart. Posteriormente los comprimidos se formaron en una embudadora Vemag con una trompeta de 2 cm de diámetro. El extrudido fue cortado manualmente en pedazos de 3 cm de largo aproximadamente y finalmente secados en un horno de convección Electrolux a 60 °C por 6 horas.

Se elaboraron cinco dietas experimentales basadas en diferentes tipos de tortillas (Tabla 2) más una dieta control positivo basada en caseína y suplementada con todos los nutrientes esenciales requeridos por una rata en crecimiento (Tabla 3).

Tabla 4. Tratamientos utilizados en las pruebas de crecimiento para ratas de laboratorio*.

Dieta	Denominación	Fuente de Variación
Control	1. Control	Control positivo: caseína
Tortilla fortificada con 6% harina de soya y enriquecida	2. TSYE	Harina de soya + enriquecimiento
Tortilla de alta calidad proteica suplementada con 3% de harina de soya y enriquecida	3. TQPMSYE	QPM + harina de soya + enriquecimiento
Tortilla de alta calidad proteica y enriquecida	4. TQPME	QPM + enriquecimiento
Tortilla regular maseca enriquecida	5. TRE	Enriquecimiento
Tortilla masa fresca	6. TMR	Control negativo

* Las tortillas enriquecidas fueron suplementadas con una premezcla de vitaminas y minerales: tiamina, riboflavina, niacina, ac. fólico, hierro y zinc.

Tabla 5. Ingredientes utilizados para la elaboración de dieta control basada en caseína (Bieri 1980).

Ingrediente	Dieta Control
Caseína	20.0
Almidón de Maíz	50.0
Azúcar	15.2
Aceite de Algodón	5.0
Celulosa	5.0
Minerales AIN	3.5
Vitaminas AIN	1.0
DL-Metionina	0.3

La dieta control contuvo azúcar para incrementar su palatabilidad.

Caracterización química nutrimental de las dietas.

Se realizó una caracterización química nutrimental de las dietas siguiendo metodologías oficiales de la AOAC (1990).

Determinación de energía metabolizable

La energía metabolizable de las tortillas y dietas fue calculada en base al contenido de carbohidratos solubles (ELN), proteína y grasa (extracto etéreo), por medio de la siguiente fórmula (USDA, 1982):

$$EM = (\%ELN * 4kcal/g) + (\%proteína * 4kcal/g) + (\%extracto etéreo * 9kcal/g).$$

Determinación de aminoácidos

Se determinó el perfil de aminoácidos de las dietas basadas en tortillas mediante el empleo de un HPLC (Kamp, 1991), donde las muestras primeramente fueron hidrolizadas con HCl 6N a 110 °C por 24 horas. Para la determinación espectrométrica los aminoácidos se derivatizaron con fenil-tio-carbamato para ser posteriormente separados en una columna de fase reversa antes de proceder a su cuantificación con un detector UV de fluorescencia.

El triptófano se determinó hidrolizando las muestras con hidróxido de bario y utilizando el método colorimétrico con dimetil-amino benzaldehído.

Bioensayos con ratas

Se formaron seis grupos de ratas recién destetadas a las cuales se les alimentó con las 6 diferentes dietas descritas anteriormente. Un total de 90 ratas Winstar, 54 hembras y 36 machos, de 21-24 días de edad (peso promedio de 40-50 g) fueron bloqueadas por sexo y peso inicial y se asignaron al azar a los diferentes tratamientos. Inicialmente, las ratas hembras (9/tratamiento) se mantuvieron en jaulas individuales de acero inoxidable en condiciones ambientales controladas (temperatura de 20-22°C y alternando períodos de 12 horas de luz y oscuridad artificial). El alimento y el agua se proporcionó *ad libitum*. Paralelamente, dos grupos de 3 machos por tratamiento se alojaron en jaulas colectivas. Se condujo un estudio de crecimiento en las ratas hembras de primera generación por 60 días, dividido en dos etapas de un mes cada una. Periódicamente, se registró el peso de las ratas y el alimento consumido. Durante la tercera y cuarta semana del ensayo se recolectaron diariamente heces y orina para determinar la digestibilidad de la materia seca, energía, proteína y los parámetros de retención de nitrógeno (valor biológico y utilización neta de la proteína). Durante la quinta a octava semana del ensayo se realizaron las pruebas de memoria y desempeño en el aprendizaje.

Después de los 60 días de crecimiento tres ratas hembras se colocaron en jaulas colectivas con el objetivo de que se aparearan con un macho del mismo tratamiento. Las ratas se identificaron por medio de muescas en sus orejas. Se dejaron 6 días con cada uno de los machos por un total de 18 días. Las ratas hembras entran en celo cada cuatro días;

durante los 18 días totales tuvieron cuando menos cuatro oportunidades de preñarse. Posteriormente, las hembras se separaron de los machos y los machos se sacrificaron. Durante el sacrificio, las ratas se anestesiaron con éter.

Las ratas preñadas se separaron en jaulas de maternidad individuales. Al día del parto, se registró el número de crías y el peso total de la camada. Posteriormente, las crías tuvieron 28 días de lactancia. Al terminar la lactancia, se determinó el número de hembras y machos de cada camada, se pesaron las ratas individualmente y se registró el número de las crías sobrevivientes. Posteriormente, se escogieron seis crías (tres hembras y tres machos) con el peso promedio de la camada para continuar un estudio de crecimiento de la segunda generación por 28 días. Al resto de los individuos de las camadas así como las hembras adultas se sacrificaron con punción intracardiaca. A las hembras adultas se les extrajo quirúrgicamente el cerebro y el cerebelo. El cerebro y cerebelo de las ratas se pesaron y se cortaron sagitalmente, con el objetivo de separar a los dos hemisferios. Un

hemisferio cerebral se utilizó para estudios histológicos y cuantificación de mielina y el otro para cuantificar el ADN, ARN y proteína.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Estudio metabólico

Seis hembras de cada tratamiento se instalaron individualmente en jaulas metabólicas por 10 días en los cuales se obtuvieron las heces y la orina diaria y se cuantificó el alimento consumido. Para prevenir pérdidas de nitrógeno, a la muestra de orina se le agregó 1 mL de HCl:H₂O (1:1) y se almacenó en un congelador junto con las heces. La muestra total de orina se filtró a través de un filtro de papel Whatman No.1 y se aforó con 100 mL de agua destilada para la determinación de nitrógeno (AOAC, 1990). Las

heces fueron secadas en un horno de convección a 60 °C, limpiadas, molidas en un mortero y pesadas para el análisis posterior de humedad y nitrógeno (AOAC; 1990). Las digestibilidades y el valor de retención de nitrógeno fueron calculados de la siguiente manera:

$$\text{Digestibilidad aparente de proteína} = \frac{[\text{Consumo de alimento (\%N)} - \text{heces (\%N)}]}{\text{Consumo de alimento (\%N)} \times 100}$$

$$\text{Valor Biológico (VB)} = \frac{[\text{Consumo de alimento (\%N)} - \text{heces (\%N)} - \text{orina (\%N)}]}{\text{Consumo de alimento (\%N)} - \text{heces (\%N)} \times 100}$$

$$\text{Utilización neta de proteína (NPU)} = \frac{(\% \text{ de digestibilidad de proteína}) (\% \text{VB})}{100}$$

$$\text{Valor del aminoácido esencial limitante corregido por digestibilidad de proteína (PDCEAAS)} = \frac{[\text{Valor de aminoácidos esenciales (\%)} (\text{Digestibilidad aparente de proteína (\%)})]}{100}$$

Cuantificación de proteína, ADN y ARN

Se pesó la mitad del cerebro y cerebelo y se homogenizaron por separado con un poco de agua bidestilada fría. El homogenizado se aforó a 25 mL con agua bidestilada. Dos alícuotas de 5 mL se secaron en una estufa a vacío a 60 °C para obtener el peso del cerebro seco.

Para determinar el contenido de proteína del cerebro se tomó por duplicado una alícuota de 2 mL y se digirió con 3 mL. de H₂SO₄ y 1 g. de K₂SO₄:CuSO₄ (25:1) en un

micro-Kjeldahl. El contenido de nitrógeno fue determinado después de aforar la muestra a 25 mL con agua destilada usando un Orion 901 microprocesador ionanalizador (Orion Research, Inc. Cambridge, MA). Se utilizó seralbúmina de bovino y sulfato de amonio para estandarizar el procedimiento. El contenido de proteína se estimó multiplicando el contenido de nitrógeno por 6.25.

Se tomaron otras alícuotas de 2 mL, por duplicado para determinar el ADN y ARN del cerebro y cerebelo utilizando el *Kit* de cuantificación ARN/ADN BDtract^{MR} (Maxim Biotech Inc., San Francisco, CA) siguiendo las técnicas modificadas de Chattopadhyay et al. (1993) para el aislamiento de muestra y de Schmidt y Thannhauser (1945) y Burton (1956) para la cuantificación. Se tomaron 100 µl de muestra y se mezclaron con 400 µl del reactivo lisis (RS1) en un tubo estéril de polipropileno vertiendo varias veces el tubo. Se agregaron 150 µl del reactivo para precipitar el ARN (RS2) frío y enseguida se agregaron 350 µl de cloroformo y se dejó 5 minutos en hielo. Enseguida se centrifugó a 12,000 rpm y se recuperó la fase acuosa superior (el precipitado se usa para la determinación del ADN). Se agregaron 650 µl de isopropanol frío a la fase acuosa superior y se centrifugó por 15 minutos a 4 °C. Se removió el líquido sobrenadante y el precipitado se lavó con etanol (75%). La muestra fue secada a 50 °C a vacío y una vez seca se diluyó con agua bidestilada. Al precipitado con ADN se le agregaron 100 µl del reactivo para extraer el ADN (DS1) y se agitó hasta obtener un líquido blanco homogéneo. La muestra se centrifugó por 10 min. a 4 °C y se recuperó el líquido sobrenadante en otro tubo. Se procedió a lavar de la misma manera por dos veces más. Se agregaron 300 µl de cloroformo y se centrifugó 5 minutos a 4 °C. Enseguida se agregó 1/10 del volumen total de muestra con el reactivo para precipitar

el ADN (DS2) y con igual cantidad de isopropanol frío y se mezcló bien. La muestra se conservó una hora a -80 °C y a -20 °C por toda la noche. Se centrifugó por 15 minutos a 4 °C, se desechó el líquido sobrenadante y se lavó el precipitado con etanol (75%). La muestra se suspendió con 25 a 50 µl de *Buffer* TE (pH=8.0). Se registró la absorbancia de las muestras a 260 nm/280 nm utilizando ADN de timo de becerro (Sigma, St. Luis, MO) y ARN de levadura (Schwartz, Mann, Orangeburg, NY) para realizar las curvas de calibración. La pureza del ARN se determinó calculando el valor de absorbancia a $(A_{260}) / (A_{280}) = 1.8$ a 2.0 y para el ADN $(A_{260}) / (A_{280}) = 1.6$ a 1.8. Para la cuantificación del ADN y ARN se utilizó la fórmula:

$$\text{Conc.} = (A_{260}) (200) (50) / (A_{260}) (10)$$

Análisis histológicos del hipotálamo

Para calcular la densidad de las sinapsis entre neuronas se procedió a utilizar el método modificado de Nelson y Silverstein (1994), en el cual se congeló una mitad del cerebro a -25 °C. Enseguida se procedió a cortar 3 o 4 laminillas de 15µm de grosor usando un Criostato (Bright Instruments, Huntingdon, Ing.). Las muestras fueron colocadas en láminas cubiertas con poli-L-Lisina. Posteriormente la muestra fue empapada con diaminobencidina (DAB) y se dejó a 37 °C por 2 h en oscuridad. Posteriormente se sumergieron las laminillas 3 veces por 5 minutos en una solución *buffer* de fosfato a temperatura ambiente. Se secaron a temperatura ambiente y se cubrieron con un cubreobjetos. Las muestras ya teñidas fueron observadas a través de un objetivo 4X de un microscopio (Modelo BH-2, Olympus America, Melville, NY) usando un filtro verde (longitud de onda 510-550 nm) para aumentar el contraste. A la mejor laminilla se le tomó

una foto a 40X de magnitud utilizando una cámara Cohu 4915 (San Diego, Ca.) y la imagen se digitalizó y transformó en escala de grises utilizando el programa NIH Image en una computadora Macintosh 8500. Este programa asigna valores entre 1 a 256 dependiendo de la intensidad del color negro de la escala de grises, las áreas completamente negras se les asigna el valor más alto (256) y a las completamente blancas el valor más bajo (1). El programa suma los valores totales de la imagen y los divide entre el valor de una imagen completamente negra dando el resultado en porcentaje. Con esto se puede tener un valor aproximado de la densidad de sinapsis entre neuronas ya que entre más densidad, mayor los puntos oscuros de la imagen y mayor el porcentaje.

Cuantificación de la mielina del cerebro y cerebelo

La mielina fue aislada siguiendo el método modificado de Folch et al. (1957), en el cual se pesó la mitad del cerebro y cerebelo sobrante del análisis histológico y se dejó 24 h por separado en una solución cloroformo/metanol/agua 8:4:3 (v/v/v) con 0.02 g/L de BHT para minimizar la oxidación posterior. Después la muestra se homogeneizó con 10 volúmenes de una solución de 0.32mol/L de sacarosa. La mezcla homogeneizada se diluyó con 14 volúmenes de una solución de sacarosa 0.8mol/L y se centrifugó por 70 minutos a 12,000 rpm. Se obtuvo la mielina como una sustancia oleosa en la parte superior de los tubos de centrifuga y enseguida se le agregó 30 mL de agua bidestilada en forma de hielo picado. La solución se conservó por 20 minutos agitándola continuamente y se volvió a centrifugar. La mielina separada fue resuspendida con una solución de sacarosa 0.32mol/L y vuelta a centrifugar. La mielina resultante se lavó 2 veces más agregándole agua bidestilada en forma de hielo picado y centrifugándola. La muestra final se secó en una estufa a vacío a 60 °C y se pesó.

Análisis de memoria y desempeño de aprendizaje

Se utilizó un laberinto de agua Morris modificado (Morris, 1981) que consistió en un tanque circular de 1.6 m de diámetro y 60 cm de altura pintado en su interior de blanco, el cual se llenó con 30 cm de agua teñida con almidón de maíz ($26\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$), para ocultar una plataforma de 10 x 10 cm la cual se situó a 1 cm de profundidad. Se localizó el tanque entre tres objetos visibles para las ratas (triangulación) y se dividió el tanque en cuatro cuadrantes imaginarios: noreste, noroeste, sureste y suroeste.

Se realizaron pruebas de memoria y de desempeño de aprendizaje en las cuales se midió el tiempo en que la rata nadaba para localizar la plataforma (latencia) y el número de errores medidos por el número de veces en que entra la rata a un cuadrante imaginario incorrecto.

Memoria de Corto Plazo

Primero se realizó la prueba de punto de salida constante (memoria de corto plazo) en la cual se instaló la plataforma en el cuadrante sureste y se introdujo a las ratas en el agua en el punto del este. Se dejó que la rata nadara hasta encontrar la plataforma, si pasando 120 segundos no la encontraba, la rata era colocada sobre la plataforma y dejada ahí por 20 segundos para que reconociera el lugar. Se realizaron 25 pruebas consecutivas (Griffith, 1998). Se determinó la latencia y el número de errores.

Memoria de largo plazo

Después de 3 días de la prueba a corto plazo se realizó la prueba de punto de salida constante a intervalos mayores de tiempo (memoria a largo plazo). El procedimiento es el

mismo que el de la memoria a corto plazo sólo que se realizaron cuatro pruebas diarias. Las pruebas se realizaron hasta que el promedio de latencia por tratamiento fue igual o inferior a 10 segundos en 3 de las 4 pruebas por 2 días consecutivos (Griffith, 1998).

Memoria de trabajo

La prueba de punto de inicio variable (memoria de trabajo) se realizó en tres días consecutivos de los cuales se realizaron 6 pruebas diarias. El punto de inicio se localizaba en el sector este en las pruebas 1, 2, 4 y 5, mientras que en la 3 y 6 se cambió el punto de inicio en el siguiente orden pseudo al azar: noreste, noroeste, sur, oeste, norte, suroeste (Griffith, 1998).

Desempeño de aprendizaje

Por último se evaluó el desempeño de aprendizaje, en 3 días consecutivos se realizaron 4 pruebas. En este caso se movió la plataforma a 180 grados de su posición inicial. El punto de inicio se cambió en el siguiente orden: norte, sur, este y oeste. Se midió la latencia y los errores en los cuadrantes de cada prueba (Griffith, 1998).

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Análisis estadísticos

Todos los datos fueron analizados usando el diseño experimental de bloques al azar. Se calculó el valor de la Diferencia Mínima Significativa (DMS) para detectar diferencias entre los tratamientos. Para los análisis de correlación se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson con dos colas con nivel de significancia de $P < 0.05$ y $P < 0.01$. Todos los análisis de los datos se llevaron a cabo utilizando el paquete computacional SPSS (2001).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición de las dietas

El contenido de proteína de las dietas TQPMSYE y TSYE (Tabla 1) estuvieron más de 1.0% arriba que las otras dietas, esto muestra el efecto de la fortificación de la soya. Es interesante notar que la dieta TMR tuvo mayor cantidad de fibra cruda y cenizas debido a la utilización de tortillas elaboradas de manera tradicional la cual conserva mayor contenido de pericarpio y calcio después del proceso de nixtamalización. La mayor cantidad de fibra presente ocasiona que la energía digestible de esta dieta fuera menor a las demás.

Tabla 6. Composición química de las dietas¹

Dieta²	TMR	TRE	TSYE	TQPM E	TQPMS YE	Control
Humedad (%)	6.23	6.66	7.32	6.78	7.02	9.72
Cenizas (%)	2.65	1.82	1.79	1.66	1.72	4.15
Proteína (%)	9.5	9.4	11.0	9.6	10.5	16.9
Extracto etéreo (%)	3.23	3.06	4.04	3.67	3.90	4.85
Fibra cruda (%)	1.54	1.32	1.12	1.29	1.23	0.37
ELN³ (%)	83.1	84.4	82.1	83.8	82.7	73.7
ED⁴ (kcal/100g)	399.5	402.7	408.8	406.6	407.9	406.5

¹ Expresadas en base seca, n=2.

² TMR = dieta basada de tortilla de masa fresca; TRE = dieta basada en tortilla de harina nixtamalizada de maíz regular enriquecidas; TSYE = dieta basada en tortilla de harina nixtamalizada de maíz regular fortificada con 6% de harina de soya y enriquecida; TQPME = dietas basadas en tortilla de harina de maíz QPM enriquecidas; TQPMSYE = dietas basadas en tortilla de harina de maíz QPM enriquecidas y fortificadas con 3% de harina de soya; Control = dieta basada en caseína.

³ ELN = Extracto libre de nitrógeno.

⁴ ED (Energía digestible) = (%ELN * 4 kcal/g) + (%proteína * 4 kcal/g) + (%extracto etéreo * 9 kcal/g).

Al valorar la calidad de los aminoácidos esenciales presentes en las diferentes dietas (Tabla 2) observamos que la dieta TQPME, aunque tiene cantidades similares de proteína, está más de 10 unidades arriba que las dietas elaboradas con tortillas de maíz regular,

mostrando el beneficio de utilizar el maíz QPM. Las dietas en las que se incorporó la soya tuvieron más de 23 unidades arriba a las dietas de tortillas elaboradas con maíz regular y más de 10 unidades arriba que la dieta TQPME.

Tabla 7. Composición de aminoácidos en las dietas^{1,2}

Dieta ³	TMR	TRE	TSYE	TQPME	TQPMSYE	Control	FAO/WHO Std. ⁴
His	2.3	2.9	2.8	3.1	3.5	2.9	1.9
Ile	3.1	3.8	3.8	2.3	3.4	5.1	2.8
Leu	10.5	11.7	11.4	7.5	9.6	10.8	6.6
Lys	3.0	3.4	4.7	4.2	4.9	8.6	5.8
Met+Cys	2.9	3.9	3.7	3.5	3.5	3.9	2.5
Phe+Tyr	6.2	7.2	7.9	6.4	6.3	9.2	6.3
Thr	2.8	3.8	3.9	3.5	3.1	4.2	3.4
Trp	0.8	0.7	1.0	0.9	1.0	1.6	1.1
Val	3.7	4.8	5.2	5.2	5.0	6.9	3.5
VAAE⁵ (%)	51.7	58.6	81.0	72.4	84.5	100.0	100

¹ Expresadas en base seca, n=2.

² Los valores son expresados en g AA/100 g proteína (base seca).

³ TMR = dieta basada de tortilla de masa fresca; TRE = dieta basada en tortilla de harina nixtamalizada de maíz regular enriquecidas; TSYE = dieta basada en tortilla de harina nixtamalizada de maíz regular fortificada con 6% de harina de soya y enriquecida; TQPME = dietas basadas en tortilla de harina de maíz QPM enriquecidas; TQPMSYE = dietas basadas en tortilla de harina de maíz QPM enriquecidas y fortificadas con 3% de harina de soya; Control = dieta basada en caseína.

⁴ Requerimiento para un niño de 2 años FAO/WHO (1984)

⁵ Valor de aminoácidos esenciales = Aminoácido esencial limitante / requerimiento para un niño de 2 años FAO/WHO (1984).

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Estudio de crecimiento

Las ratas de la primera generación alimentadas con la dieta control (Tabla III) obtuvieron la más alta conversión proteica. La dieta TQPMSYE (2.13 g de peso ganado/g de proteína consumida) obtuvo los mejores resultados de las dietas con tortilla seguida por las ratas alimentadas con las dietas TSYE y TQPME (1.84 y 1.89 g de peso ganado/g de proteína consumida, respectivamente). La peor eficiencia de conversión proteica se observó en los animales alimentados con las dietas TMR y TRE (0.98 y 1.41 g de peso ganado/g de

proteína consumida respectivamente). Se encontró una correlación del 0.968, $P < 0.01$ entre el VAAE y el peso final de las ratas y de 0.977, $P < 0.01$ entre el VAAE y la conversión proteica. Esto confirma que el valor de aminoácidos esenciales está íntimamente relacionado con la eficiencia de la conversión proteica y por lo tanto de la ganancia de peso. Las ratas control alimentadas con una dieta a base caseína tuvieron el mayor crecimiento y conversión proteica. Estos datos están acordes con otras investigaciones realizadas (Serna Saldivar et al., 1987, Serna Saldivar et al., 1988a, 1988b, Sproule et al., 1988, Stylianopoulos et al., 2002).

Las ratas alimentadas con las dietas elaboradas con maíz regular sin fortificar (TMR y TRE) presentaron pérdida de pelo y dermatitis severa especialmente después del segundo mes de estudio. Se conoce que la deficiencia de niacina produce pelagra y dermatitis (Neldner, 1988). Interesantemente las ratas alimentadas con maíz QPM y/o soya no presentaron la dermatitis debido a la presencia de mayor cantidad de triptofano que es convertido a niacina (Koeppel, 1955).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tabla 8. Efectos del enriquecimiento y fortificación de tortillas en el crecimiento de ratas de la primera generación¹

Dieta ⁴	TMR ²	TRE ³	TSYE ³	TQPME ³	TQPMSYE ³	Control ³
Peso inicial⁵ (g)	48.55 ^a	48.23 ^a	48.45 ^a	48.64 ^a	48.45 ^a	48.10 ^a
Peso final⁶ (g)	68.98 ^a	88.01 ^b	121.12 ^d	113.02 ^c	120.67 ^d	135.77 ^c
ΔWt.⁷ (g)	20.43 ^a	39.78 ^b	72.67 ^d	64.38 ^c	72.22 ^d	87.67 ^c
CA⁸ (g)	218.6 ^a	298.6 ^b	348.7 ^{bc}	364.3 ^c	321.5 ^{bc}	214.2 ^a
CP⁹ (g)	20.8 ^a	28.1 ^b	38.4 ^c	35.0 ^c	33.8 ^c	36.2 ^c
ΔWt/CP	0.98 ^a	1.41 ^b	1.89 ^c	1.84 ^c	2.13 ^d	2.42 ^c

¹ Los valores de cada columna con diferente letra(s) difieren significativamente (P<0.05).

² n= 8.

³ N= 9.

⁴ TMR = dieta basada de tortilla de masa fresca; TRE = dieta basada en tortilla de harina nixtamalizada de maíz regular enriquecidas; TSYE = dieta basada en tortilla de harina nixtamalizada de maíz regular fortificada con 6% de harina de soya y enriquecida; TQPME = dietas basadas en tortilla de harina de maíz QPM enriquecidas; TQPMSYE = dietas basadas en tortilla de harina de maíz QPM enriquecidas y fortificadas con 3% de harina de soya; Control = dieta basada en caseína.

⁵ Peso de la rata destetada.

⁶ Peso de las ratas a los 28 días de crecimiento.

⁷ ΔWT = Peso ganado.

⁸ CA = Consumo de alimento (28 días).

⁹ CP = Consumo proteico (28 días).

El mismo comportamiento de crecimiento y de conversión proteica se observó en

las ratas de la segunda generación (Tabla 4). Se obtuvieron correlaciones de 0.99, P<0.01 entre el VAAE y el peso final de las ratas y de 0.964, P<0.01 entre el VAAE y la

conversión proteica. Este comportamiento es importante ya que existe evidencias que ratas

malnutridas durante sus primeras 3 semanas de vida nunca alcanzaran un tamaño normal

aún si son bien alimentadas en el futuro (McCane, 1962).

Tabla 9. Efectos del enriquecimiento y fortificación de tortillas en el crecimiento de ratas de la segunda generación¹

Dietas ⁴	TMR ²	TRE ³	TSYE ³	TQPME ³	TQPMSYE ³	Control ³
Peso inicial⁵ (g)	22.62 ^a	29.8 ^b	36.81 ^c	34.78 ^c	37.59 ^c	42.13 ^d
Peso final⁶ (g)	38.1 ^a	48.21 ^b	84.35 ^d	78.92 ^c	87.53 ^d	123.46 ^e
ΔWt.⁷ (g)	15.48 ^a	18.41 ^b	47.54 ^{cd}	44.14 ^c	49.94 ^d	81.33 ^e
CA⁸ (g)	328.5 ^d	307.6 ^c	246.7 ^a	268.9 ^b	242.1 ^a	323.0 ^d
CP⁹ (g)	31.3 ^c	28.91 ^b	27.14 ^{ab}	25.82 ^a	25.42 ^a	35.21 ^d
ΔWt/CP	0.49 ^a	0.63 ^b	1.75 ^c	1.71 ^c	1.96 ^d	2.31 ^e

¹ Los valores de cada columna con diferente letra(s) difieren significativamente (P<0.05).

² n= 3.

³ n= 6.

⁴ TMR = dieta basada de tortilla de masa fresca; TRE = dieta basada en tortilla de harina nixtamalizada de maíz regular enriquecidas; TSYE = dieta basada en tortilla de harina nixtamalizada de maíz regular fortificada con 6% de harina de soya y enriquecida; TQPME = dietas basadas en tortilla de harina de maíz QPM enriquecidas; TQPMSYE = dietas basadas en tortilla de harina de maíz QPM enriquecidas y fortificadas con 3% de harina de soya; Control = dieta basada en cascina.

⁵ Peso de la rata destetada.

⁶ Peso de las ratas a los 28 días de crecimiento.

⁷ ΔWT = Peso ganado.

⁸ CA = Consumo de alimento (28 días).

⁹ CP = Consumo proteico (28 días).

Comparando las dos generaciones (Tabla 5) se puede observar que todas las ratas de la segunda generación tuvieron menor peso después del periodo de lactancia y después del periodo de alimentación de 28 días que las de la primera generación. Estos datos se esperan por la falta de aminoácidos esenciales de las dietas basadas en tortilla, sin embargo no en la dieta control. Por lo que se supone algún factor ambiental afectó el crecimiento de las ratas. Sin embargo en cuanto a la conversión proteica no se obtuvo diferencia significativa en las dos generaciones de las ratas control, así como en las dietas TQPME, TSYE y TQPMSYE. La conversión proteica en las ratas alimentadas con las dietas TMR y TRE de la segunda generación disminuyó cerca del 50% comparado con los de la segunda, esto demuestra la severidad de la desnutrición continua en dos generaciones. Stylianopoulos et

al. (2002) observaron este mismo comportamiento en pruebas similares, pero la disminución fue de manera más pronunciada (cerca del 70% de la conversión proteica abajo) en la segunda generación.

Tabla 10. Comparación del crecimiento entre la primera y segunda generación de ratas¹

Dietas ⁵		Peso inicial ⁶ (g)	Peso final ⁷ (g)	Δ Wt. ⁸ (g)	CA ⁹ (g)	CP ¹⁰ (g)	Δ Wt/CP
TMR	1º. Generación ²	48.55 ^b	68.98 ^b	20.43 ^b	218.6 ^a	20.8 ^a	0.98 ^b
	2º. Generación	22.62 ^a	38.10 ^a	15.48 ^a	328.5 ^b	31.3 ^b	0.49 ^a
TRE	1º. Generación ³	48.23 ^b	88.01 ^b	39.78 ^b	298.6 ^a	28.10 ^a	1.41 ^b
	2º. Generación ⁴	29.80 ^a	48.21 ^a	18.41 ^a	307.6 ^b	28.91 ^b	0.63 ^a
TSYE	1º. Generación ³	48.45 ^b	121.12 ^b	72.67 ^b	348.7 ^b	38.4 ^b	1.89 ^a
	2º. Generación ⁴	36.81 ^a	84.35 ^a	47.54 ^a	246.7 ^a	27.14 ^a	1.75 ^a
TQPME	1º. Generación ³	48.64 ^b	113.02 ^b	64.38 ^b	364.3 ^b	35.00 ^b	1.84 ^a
	2º. Generación ⁴	34.78 ^a	78.92 ^a	44.14 ^a	268.9 ^a	25.82 ^a	1.71 ^a
TQPMSYE	1º. Generación ³	48.45 ^b	120.67 ^b	72.22 ^b	321.5 ^b	33.80 ^b	2.13 ^a
	2º. Generación ⁴	37.59 ^a	87.53 ^a	49.94 ^a	242.1 ^a	25.42 ^a	1.96 ^a
Control	1º. Generación ³	48.10 ^b	135.77 ^b	87.67 ^b	214.2 ^a	36.20 ^a	2.42 ^a
	2º. Generación ⁴	42.13 ^a	123.46 ^a	81.33 ^a	223.0 ^a	37.68 ^a	2.31 ^a

¹ Los valores de cada tratamiento en cada columna con diferente letra(s) difieren significativamente (P<0.05).

² n= 8.

³ n= 9.

⁴ Promedio de 6 observaciones

⁵ TMR = dieta basada de tortilla de masa fresca; TRE = dieta basada en tortilla de harina nixtamalizada de maíz regular enriquecidas; TSYE = dieta basada en tortilla de harina nixtamalizada de maíz regular fortificada con 6% de harina de soya y enriquecida; TQPME = dietas basadas en tortilla de harina de maíz QPM enriquecidas; TQPMSYE = dietas basadas en tortilla de harina de maíz QPM enriquecidas y fortificadas con 3% de harina de soya; Control = dieta basada en caseína.

⁶ Peso de la rata destetada.

⁷ Peso de las ratas a los 28 días de crecimiento.

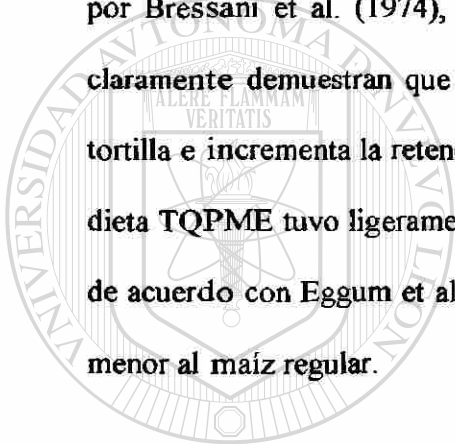
⁸ Δ WT = Peso ganado.

⁹ CA = Consumo de alimento (28 días).

¹⁰ CP = Consumo proteico (28 días).

Ratas alimentadas con las dietas TSYE (69.99% BV, 58.34% NPU) y TQPMSYE (69.59% BV, 59.16% NPU) tuvieron los mejores valores biológicos y de utilización neta de proteína seguida por la dieta TQPME (64.23% BV, 55.89% NPU). Los animales alimentados con la dieta TRE (55.64% BV, 47.75% NPU) y TMR (39.35% BV, 33.83 % NPU) tuvieron los valores menores (Tabla 6).

Los valores de retención de nitrógeno estuvieron muy relacionados con el PDECAAS (valores de correlación $BV=0.838$, $P<0.05$ y $NPU=0.928$, $P<0.01$), esto indica que es un excelente indicador de calidad proteica. Los animales alimentados con dietas a base de maíz QPM y/o fortificadas con soya ganaron más peso y retuvieron más eficientemente el nitrógeno que las ratas alimentadas con dietas de tortilla regular sin fortificar como en otros estudios publicados (Sproule et al., 1988, Sullivan et al., 1989). Investigaciones realizadas por Bressani et al. (1974), Serna Saldivar et al. (1988a) y Stylianopoulos et al. (2002) claramente demuestran que la adición de soya no afecta la digestibilidad proteica de la tortilla e incrementa la retención de nitrógeno y crecimiento de animales de laboratorio. La dieta TQPME tuvo ligeramente mejor digestibilidad que el resto de las dietas, esto no esta de acuerdo con Eggum et al. (1979) que menciona que la digestibilidad del maíz QPM es menor al maíz regular.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tabla 11. Efectos de la fortificación y enriquecimiento de tortillas en valores de digestibilidad y retención de nitrógeno de las ratas de la 1^o. generación^{1,4}

<i>Dietas²</i>	<i>Digestibilidad aparente (%)</i>		<i>Valor biológico (%)</i>	<i>Utilización neta de proteína (%)</i>	<i>PDECAAS³ (%)</i>
	<i>Materia seca</i>	<i>Proteína</i>			
TMR	90.14 ^a	85.70 ^{ab}	39.35 ^a	33.83 ^a	44.31 ^a
TRE	90.34 ^a	85.65 ^{ab}	55.64 ^b	47.75 ^b	50.19 ^b
TSYE	88.24 ^a	83.35 ^a	69.99 ^d	58.34 ^d	67.51 ^d
TQPME	92.46 ^b	86.94 ^b	64.23 ^c	55.89 ^c	62.94 ^c
TQPMSYE	89.63 ^a	85.02 ^{ab}	69.59 ^d	59.16 ^d	71.84 ^d
Control	95.65 ^c	94.53 ^c	72.21 ^e	68.27 ^e	94.53 ^e

¹ Expresadas en base seca, n=6.

² TMR = dieta basada de tortilla de masa fresca; TRE = dieta basada en tortilla de harina nixtamalizada de maíz regular enriquecidas; TSYE = dieta basada en tortilla de harina nixtamalizada de maíz regular fortificada con 6% de harina de soya y enriquecida; TQPME = dietas basadas en tortilla de harina de maíz QPM enriquecidas; TQPMSYE = dietas basadas en tortilla de harina de maíz QPM enriquecidas y fortificadas con 3% de harina de soya; Control = dieta basada en caseína.

³ Valor del aminoácido esencial limitante corregido por digestibilidad de proteína

⁴ Los valores de cada columna con diferente letra(s) difieren significativamente (P<0.05).

Los efectos del enriquecimiento de la harina nixtamalizada de maíz con vitaminas y minerales se pueden apreciar observando las diferencias registradas entre los tratamientos de TRE y TMR. En el cual se obtuvo casi 20 g más de peso promedio en las ratas de la primera generación alimentadas con la dieta TRE a los 28 días de estudio y una tasa de utilización de proteína (peso ganado/consumo de proteína) de 0.43 unidades arriba que la dieta TMR. En la segunda generación la diferencia entre los tratamientos TMR y TRE fue

también significativa pero con diferencias menores (ganancia de peso 15.48 g y 18.41g y utilización de proteína de 0.49 y 0.63 respectivamente). No se encontraron diferencias significativas en cuanto a la digestibilidad aparente de materia seca y proteína, sin embargo el Valor Biológico y la Utilización Neta de Proteína si registraron diferencias significativas (V.B. > 16%, NPU > 14%) a favor de la dieta TRE.

Si comparamos las ratas de la dieta TRE y las alimentadas con la dieta TQPME podremos observar el beneficio de utilizar el maíz QPM sobre el maíz regular. Observamos que la cantidad de proteína en ambas dietas es semejante (9.4% vs. 9.6%), sin embargo el balance de aminoácidos esenciales es muy superior en la dieta TQPME que en la dieta TRE (72.4% vs. 58.6%). Esto ocasionó que las ratas alimentadas con la dieta TQPME ganaran más de 25 g de peso en los 28 días de alimentación en la primera generación y más de 30 g en las ratas de la segunda generación comparadas con las ratas TRE. La utilización de proteína (peso ganado/consumo de proteína) también fue mayor en las ratas TQPME (1°.

generación= 1.84, 2° generación= 1.71), que en las ratas TRE (1° generación= 1.41, 2° generación= 0.63). Se observó que ambos parámetros se agudizaron en la segunda generación evidenciando las bondades de la utilización del maíz QPM. No se evidenció un cambio de digestibilidad de la proteína en ambos tratamientos, pero si en la digestibilidad aparente de materia seca donde la dieta TQPME obtuvo un 93.46% vs. 90.34% de la dieta control. Los mejores Valores Biológicos (64.25% vs. 55.64%) y Utilización Neta de Proteína (55.89% vs. 47.75%) se observaron en animales alimentados con la dieta TQPME.

Comparando los resultados de la dieta TRE (tortilla regular enriquecida) vs. la dieta TSYE (tortilla regular enriquecida + 6% de soya) y por separado la dieta TQPME (tortilla

QPM enriquecida) vs. la dieta TQPMSYE (tortilla QPM enriquecida + 3% de soya). Las primeras diferencias que podemos apreciar son en el nivel de proteína y valor de aminoácidos esenciales. La dieta TRE contenía 9.4% de proteína y un valor AAE de 58.6%, en contraste la dieta TSYE contenía 11.0% de proteína y un valor de AAE de 81.0%. Por su parte la dieta TQPME contenía 9.6% de proteína y un valor AAE de 72.4%, en contraste la dieta TQPMSYE contenía 10.5% de proteína y un valor de AAE de 84.5%. Esto primeramente se visualizó en el mayor peso de las ratas de la primera generación alimentadas con las dietas fortificadas. Las ratas de la dieta TRE (88 g peso final) crecieron menos a los 28 días de alimentación que las contrapartes alimentadas con la dieta TSYE (121.12 g peso final). Se observó el mismo comportamiento con la dieta TQPME (113.02 g peso final) y la dieta TQPMSYE (120.67 g peso final) aunque con una diferencia menor gracias al mejor balance de AAE del maíz QPM. Lo mismo se repitió con las ratas de la segunda generación donde las diferencias de peso fueron mayores debido a la carencia de nutrimentos acumulados en las etapas prenatal y de lactancia. Las ratas alimentadas con la dieta TRE pesaron al final de los 28 días de estudio 48.21 g mientras que las ratas de la dieta TSYE pesaron casi el doble (84.35 g). Sin embargo las ratas de la dieta TQPME pesaron significativamente menos (78.92 g) que las de la dieta fortificada con 3% de soya (87.53 g). No se evidenció una diferencia significativa ($p < 0.05$) en la digestibilidad entre la dieta TRE y TSYE, pero se notó un mejor Valor Biológico (69.99% vs. 55.64%) y Utilización Neta de Proteína (58.34% vs. 47.75%) en la dieta TSYE. Al comparar las dietas TQPME y TQPMSYE encontramos mejor digestibilidad en la dieta sin soya, sin embargo la dieta TQPMSYE (con soya) tuvo valores más altos de Valor biológico (69.59% vs. 64.23%) y Utilización Neta de Proteína (68.27% vs. 59.16%).

Los efectos de la adición de 6 y 3% de harina de soya desengrasada a las tortillas de maíz regular QPM respectivamente, afectaron la concentración proteica y el valor de AAE. Cabe mencionar que para la dieta TQPMSYE se agregó 3% de soya al maíz QPM esperando un nivel semejante al valor de aminoácidos esenciales que la dieta TSYE. Las dietas TSYE y TQPMSYE contenían 11% y 10.5% de proteína y un valor de aminoácidos esenciales de 81.0 y 84.5% respectivamente. Se puede observar que aunque la dieta TQPMSYE tiene menor contenido de proteína, la calidad de esta proteína es de mejor calidad que de la dieta TSYE. Gracias a esto, se obtuvo una mejor ganancia de peso/proteína consumida en las ratas alimentadas con la dieta TQPMSYE, tanto en la primera como en la segunda generación. No se encontraron diferencias significativas en cuanto a la digestibilidad aparente de materia seca y proteína, Valor Biológico y la Utilización Neta de Proteína entre los dos tratamientos, por lo que la utilización de QPM reducir en la mitad el nivel de fortificación con soya sin afectar el nivel proteico nutricional de la tortilla, presentando ventajas económicas y posiblemente organolépticas o sensoriales de la tortilla.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Estudio de desempeño reproductivo

Las ratas hembras alimentadas con las dietas control, TSYE, TQPME, TQPMSYE obtuvieron un 100% de preñez después de 18 días de apareamiento mientras que las ratas alimentadas con las dietas TRE y TMR obtuvieron valores de 77.7 y 37.5% de preñez respectivamente. La menor preñez es asociada al menor peso de los animales debido a la deficiencia de aminoácidos esenciales, vitaminas y minerales. La deficiencia de proteínas de alta calidad, hierro y ácido fólico se han asociado a bajos niveles de reproducción

(Alexander et al., 1988). Además las ratas hembras alimentadas con dietas control, TSYE, TQPME, TQPMSYE tuvieron cerca de 8 a 11 crías/camada en comparación a las 3 a 6 crías/camada de las dietas TRE y TMR. El peso al nacimiento fue similar en todos los tratamientos pero el peso al final de lactación y el número de sobrevivientes después de ésta fue mayor en las dietas control, TSYE, TQPME, TQPMSYE. Se tienen reportes que la baja calidad proteica de las dietas incide en la baja producción de leche de las hembras ocasionando crías de menor peso (Alexander et al., 1988, Friggers et al., 1993, Rasmussen, 1988, Sakanashi et al., 1987).

Tabla 12. Efectos de la fortificación y enriquecimiento de tortillas en el % de preñez, peso de la camada y crecimiento de ratas lactantes⁵

Dietas ¹	% de preñez	Número de crías por camada	Peso de las crías al nacimiento (g)	Peso de la cría al destete (g)	% de sobrevivencia ⁴ (%)
TMR ²	37.5 ^a	3.4 ^a	4.2 ^a	22.6 ^a	26.4 ^a
TRE ³	77.7 ^b	6.4 ^b	4.5 ^{ab}	29.8 ^b	53.2 ^b
TSYE ³	100 ^c	9.0 ^c	4.7 ^b	36.8 ^c	74.6 ^c
TQPME ³	100 ^c	8.2 ^c	4.5 ^{ab}	34.8 ^c	68.4 ^c
TQPMSYE ³	100 ^c	9.3 ^c	4.9 ^b	37.6 ^c	77.4 ^c
Control ³	100 ^c	11.2 ^d	5.2 ^c	42.1 ^d	86.3 ^d

¹ TMR = dieta basada de tortilla de masa fresca; TRE = dieta basada en tortilla de harina nixtamalizada de maíz regular enriquecidas; TSYE = dieta basada en tortilla de harina nixtamalizada de maíz regular fortificada con 6% de harina de soya y enriquecida; TQPME = dietas basadas en tortilla de harina de maíz QPM enriquecidas; TQPMSYE = dietas basadas en tortilla de harina de maíz QPM enriquecidas y fortificadas con 3% de harina de soya; Control = dieta basada en caseína.

² n= 8.

³ n= 9.

⁴ % de ratas que sobrevivieron 21 días después del parto.

⁵ Los valores de cada columna con diferente letra(s) difieren significativamente (P<0.05).

Los efectos del enriquecimiento de la harina nixtamalizada de maíz con vitaminas y minerales se pueden apreciar observando las diferencias registradas entre los tratamientos de TMR y TRE. Se observa que la diferencia en el desempeño reproductivo entre tratamientos fue enorme. Se encontraron diferencia significativa ($p < 0.05$) entre el % de preñez (37.5% vs. 77.7%), número de crías por camada (3.4 vs. 6.4), peso de las crías al destete (22.6 g vs. 29.8 g) y % de crías sobrevivientes (26.4% vs. 53.2%). Esta diferencia es atribuible a la adición de vitaminas B₁, B₂, niacina, ácido fólico y los minerales; hierro y zinc.

Si se compara las ratas alimentadas con la dieta TRE y las contrapartes de la dieta TQPME se puede observar el beneficio de utilizar el maíz QPM. Se observaron diferencias significativas entre la dieta TQPME y TRE en el % de preñez (100% vs. 77.7%), número de crías por camada (8.2 vs. 6.4), peso de las crías al destete (34.8 g vs. 29.8 g) y % de sobrevivencia (68.4% vs. 53.2%). Este mismo comportamiento lo observaron

Stylianopoulos et al. (2002) donde se indica que la calidad proteica de las dietas a base de tortilla afectó el desempeño reproductivo.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Para determinar el efecto de la fortificación con soya en las tortillas se compararon los resultados de la dieta TRE vs. la dieta TSYE y por separado la dieta TQPME vs. la dieta TQPMSYE. No se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las dietas TQPME y TQPMSYE, sin embargo las dietas TRE y TSYE tuvieron grandes diferencias. Se encontraron diferencias en el % de preñez (TRE= 77.7%, TSYE= 100%), número de crías por camada (TRE= 6.4, TSYE= 9.0), peso de las crías al destete (TRE= 29.8 g, TSYE= 36.8 g) y % de sobrevivencia (TRE= 53.2%, TSYE= 74.6%).

Al comparar las diferencias de las dietas fortificadas con soya entre sí (TSYE vs. TQPMSYE) no se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$), así como en el desempeño reproductivo y crecimiento de crías, lo que significa que ambas dietas suministran niveles parecidos de nutrimentos a las ratas.

Estudio histológico y bioquímico del cerebro

Al comparar el peso del cerebro y cerebelo de las ratas de la 1^o. generación (Tabla 8) con el PDECAAS de las diferentes dietas se encontró una muy alta correlación (0.969, $P < 0.01$ y 0.895, $P < 0.05$ respectivamente) por lo que se puede observar la importancia de la calidad proteica de los alimentos en el tamaño de estos dos órganos. Sin embargo podemos observar al obtener la relación Peso cerebro/ Peso corporal y Peso cerebelo/Peso corporal un comportamiento distinto; resultando la dieta TMR como la de mayor valor de la relación del peso de cerebro y la TSYE y TQPMSYE con la mayor valor de la relación del peso de cerebelo, por lo que se puede observar el efecto de la calidad proteica también en la masa corporal. Las dos dietas fortificadas con soya obtuvieron mayores pesos de cerebro y cerebelo que las dietas sin fortificar. Se ha observado que la desnutrición temprana reduce el tamaño del cerebro y cerebelo (Chase et al., 1967, Culley y Lineberger, 1968, Smart et al., 1973, Winick y Nobel, 1966, Zamenhov et al., 1971). Se ha encontrado que el tamaño del cerebro en las ratas bien alimentadas disminuye a medida que la rata crece. En ratas con desnutrición temprana esta disminución se presenta más tarde. Aunque el tamaño normal del cerebro nunca se alcanza, la recuperación en ratas con dietas normales después de una desnutrición temprana es considerable. En contraste se ha encontrado que el tamaño del cerebelo nunca se recupera por una desnutrición temprana, aún después que el animal es

expuesto a una dieta completa y a estímulos adecuados (Warren y Bedi, 1988). Se han relacionados estos cambios del cerebelo con deficiencias en pruebas motoras y de memoria de trabajo en animales de laboratorio (Gramsbergen y Westerga, 1992). Pollit et al. (1993) ha relacionado estas deficiencia motoras con la habilidad de lectura y escritura en niños pequeños malnutridos.

Las dietas control, TSYE, TQPME, TQPMSYE presentaron niveles semejantes de mielina en el cerebro y superiores que las dietas sin fortificar. Es de resaltar la diferencia entre el contenido de mielina entre las dietas TMR y TRE en donde la fuente de variación fue el enriquecimiento con vitaminas y minerales. Se ha observado en ratas alimentadas con dietas deficientes en zinc bajo peso cerebral y anorexia, por lo que no se ha establecido con claridad si esta falta de peso cerebral se deba directamente a la deficiencia del zinc o a la falta de alimentación debida a la anorexia (Golub et al., 1995). Se ha encontrado que niveles bajos de hierro en la dieta inducen a cambios en la

composición de lípidos cerebrales. Como el hierro es un cofactor esencial para la síntesis de lípidos y colesterol, su disminución esta relacionada en contenidos más bajos de lípidos e hipomielinización (Oloyede et al., 1992, Yeh et al., 1988). Se ha encontrado que la reducción de la mielina cerebral se relaciona con la reducción de los axones mielinizados en el cerebro (Wiggins, 1982). En ratas mal alimentadas el contenido de lípidos en las estructuras celulares del cerebro, como el colesterol y los fosfolípidos se reducen proporcionalmente al peso del cerebro, sin embargo en los lípidos ricos en mielina esta reducción se ve acentuada con la mala nutrición (Davison y Dobbing, 1966). Como la mielina es rica en sulfátidos, la síntesis de éstos coincide con la formación de la mielina. Esta reacción está bien estudiada y se ha identificado a la

enzima galactocerebrosida sulfoquinasa como la responsable de esta síntesis. Se ha encontrado que la síntesis de sulfátidos en ratas jóvenes comienza entre el séptimo y octavo día de lactación logrando la síntesis más abundante a los 18 días de nacida, cayendo abruptamente hasta casi valores de cero a los 30 días de edad. Este comportamiento no se ha determinado si es debido a un defecto en la síntesis de la enzima responsable de la reacción o a la falta de una sustancia precursora (Chase et al., 1967). Este fenómeno resiste la rehabilitación alimenticia y ratas con desnutrición temprana nunca pueden alcanzar niveles semejantes de mielina cerebral que las ratas control bien alimentadas (Fuller y Wiggins, 1984, Royland et al., 1992). Esta reducción tiene mucha importancia funcional ya que los axones mielinizados transmiten información más rápido que las fibras nomelanonizadas (Wiggins et al., 1982).

Se ha encontrado que entre mayor sea la actividad cerebral de los animales de laboratorio mayor número de sinapsis entre neuronas se producen (Warren y Bedi, 1984), esto se puede apreciar de mejor manera a nivel del hipotálamo, por eso normalmente se usa esta parte del cerebro para determinar la densidad de sinapsis. Normalmente se considera que esta formación de nuevos sinapsis entre neuronas (plasticidad) tiene que ver con los estímulos externos que sufre el animal (repeticiones, experiencias, etc.) y no por su alimentación (Warren y Bedi, 1984), sin embargo, se sabe que en animales alimentados con dietas hipoproteicas se reduce la cantidad de vasos sanguíneos que irrigan la corteza cerebral, además de que presentan poca energía y aprovechan de menor manera los estímulos externos que los animales bien alimentados (Taleb et al., 1999).

Tabla 13. Efectos de la fortificación y enriquecimiento en el tamaño de cerebro, cerebelo y contenido de mielina en ratas de la 1^o generación (edad prom. 158 días)¹

Dieta	Peso Cerebro mg	Peso cerebro/Peso corporal	Peso cerebelo mg	Peso cerebelo/Peso corporal	Mielina mg/g	Densidad de sinapsis %
TMR ²	1024.3 ^a	14.85 ^b	174.4 ^a	2.53 ^a	86.6 ^a	26.4 ^a
TRE ³	1130.9 ^b	12.85 ^a	205.8 ^a	2.34 ^a	124.2 ^b	29.8 ^a
TSYE ³	1460.4 ^d	12.05 ^a	340.0 ^c	2.81 ^b	187.4 ^c	41.5 ^b
TQPME ³	1324.5 ^c	11.72 ^a	302.6 ^b	2.68 ^a	181.0 ^c	43.6 ^b
TQPMSYE ³	1503.4 ^d	12.46 ^a	354.2 ^{cd}	2.94 ^b	193.0 ^c	42.3 ^b
Control ³	1671.1 ^e	12.30 ^a	368.3 ^d	2.71 ^{ab}	190.7 ^c	47.5 ^c

¹ Análisis de varianza. Los valores de cada columna con diferentes letra(s) difieren significativamente ($p < 0.05$, Prueba de comparación múltiple de Duncan).

² $n = 8$

³ $n = 9$

Al comparar el peso del cerebro y cerebelo de las ratas de la 2^o. generación (Tabla 9) con el PDECAAS de las diferentes dietas se encontró una muy alta correlación (0.967, $P < 0.01$ y 0.884, $P < 0.05$ respectivamente) muy semejante a las ratas de la 1^o generación. En esta segunda generación la relación Peso cerebro/Peso corporal y Peso cerebelo/Peso corporal se acentuó, observándose que entre mejor calidad proteica de las dietas menores valores de relación. Esto no implica que las ratas bien alimentadas tuvieran cerebros pequeños, sino que la masa corporal se desarrollo mejor y el tamaño del cerebro y cerebelo llegó a su tamaño normal regido por la información genética de las ratas. Este mismo comportamiento se observó en las investigaciones de Lueba y Rabinowicz (1979). En cuanto al contenido de mielina se observó que la dieta control obtuvo el mayor valor seguida por las dietas TSYE y TQPMSYE. A diferencia de la primera generación aquí sí encontramos diferencias entre los tratamientos fortificados en el contenido de mielina, por lo que la falta de nutrimentos en las etapas de prenatal y de lactancia influyó en ello. En

cuanto a la densidad de sinapsis no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos debido probablemente al pequeño tamaño de los cerebros, que dificultó la toma de muestras, o que las ratas no estuvieron el tiempo suficiente expuestas a estímulos externos.

Tabla 14. Efectos de la fortificación y enriquecimiento en el tamaño de cerebro, cerebelo y contenido de mielina en ratas de la 2ª generación (edad promedio 62 días)¹

Dieta	Peso Cerebro mg	Peso cerebro/Peso corporal	Peso cerebelo mg	Peso cerebelo/Peso corporal	Mielina mg/g	Densidad de sinapsis %
TMR ²	394.6 ^a	10.36 ^d	61.2 ^a	1.61 ^d	68.8 ^a	32.5 ^a
TRE ³	412.2 ^b	8.55 ^c	64.9 ^a	1.35 ^c	126.8 ^b	34.6 ^a
TSYE ³	656.0 ^d	7.77 ^b	99.0 ^c	1.17 ^b	136.7 ^c	36.4 ^a
TQPME ³	578.6 ^c	7.33 ^b	91.7 ^b	1.16 ^b	128.6 ^b	36.5 ^a
TQPMSYE ³	694.3 ^d	7.93 ^b	99.3 ^c	1.13 ^b	131.3 ^{bc}	32.8 ^a
Control ³	803.4 ^e	6.05 ^a	104.3 ^d	0.84 ^a	142.6 ^d	38.6 ^a

¹ Análisis de varianza. Los valores de cada columna con diferentes letra(s) difieren significativamente ($p < 0.05$, Prueba de comparación múltiple de Duncan).

² $n = 3$.

³ $n = 6$.

El contenido de ADN en el cerebro se ha relacionado con su contenido de neuronas (Winick y Nobel 1966). En las ratas de la primera generación (Tabla 10) no se encontró diferencias significativas entre los tratamientos, sin embargo hay literatura reportada la cual relaciona el bajo contenido de ADN con la desnutrición de animales de laboratorio (Winick, 1966 y 1969, Zamenhof et al., 1968, Zamenhof, 1985, Warren y Bedi, 1988 y Stylianopoulos et al., 2002).

Winick y Nobel (1966) propusieron que la relación proteína/ADN puede usarse como un indicador del tamaño de las neuronas en el cerebro. Niveles significativos bajos de proteína/ADN se encontraron en dietas sin fortificar, seguidas por las fortificadas y con valores mayores la dieta control (Tabla 10). Angulo-Colmenares et al. (1979), Lueba y Rabinowicz (1979) y Salas et al. (1974) han encontrado que el grosor de las neuronas en animales desnutridos es menor que los animales control.

Se ha propuesto a la relación ARN/ADN como indicador de la actividad metabólica (síntesis de proteína) de las células cerebrales (Winick y Nobel, 1965), por lo que entre mayor sea el valor de esta relación mayor será la actividad cerebral. Podemos observar que las dietas control y las fortificadas tuvieron niveles de actividad semejantes, superiores significativamente que las ratas alimentadas con dietas sin fortificar (Tabla 10).

Tabla 15. Efectos de la fortificación y enriquecimiento en el total de proteína, ARN y ADN en ratas de la 1ª generación (edad promedio 158 días) ¹

Dieta	Proteína/peso cerebro mg/g	ARN/peso cerebro mg/g	ADN/peso cerebro mg/g	Proteína/ADN	ARN/ADN
TMR ²	96.76 ^a	3.66 ^a	6.96 ^a	13.90 ^a	0.55 ^a
TRE ³	96.72 ^a	4.05 ^b	6.82 ^a	14.18 ^a	0.59 ^a
TSYE ³	108.67 ^b	4.41 ^c	6.84 ^a	15.88 ^b	0.64 ^b
TQPME ³	105.43 ^b	4.52 ^c	6.75 ^a	15.61 ^b	0.66 ^b
TQPMSYE ³	106.86 ^b	4.43 ^c	6.82 ^a	15.66 ^b	0.65 ^b
Control ³	123.74 ^c	4.61 ^c	6.78 ^a	18.25 ^c	0.67 ^b

¹ Análisis de varianza. Los valores de cada columna con diferentes letra(s) difieren significativamente ($p < 0.05$, Prueba de comparación múltiple de Duncan).

² $n = 8$.

³ $n = 9$.

En las ratas de la segunda generación (Tabla 11) se observó que los animales alimentados con la dieta control tuvieron más ADN, seguidas por las dietas TQPME, TQPMSYE y TSYE, superiores significativamente a la dieta de maíz regular enriquecida (TRE) y por último la dieta TMR. Este comportamiento difiere al de la primera generación, por lo que la falta de nutrientes en la etapa prenatal y de lactancia influyó en esta diferencia. Se encontró una correlación del 0.82, $P < 0.05$ entre el contenido de ADN y del PDECAAS. La relación proteína/ADN se comportó de la misma manera que la primera generación, pero sorprendentemente no se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en la relación ARN/ADN, confirmando lo encontrado por el análisis histológico (densidad de sinapsis).

Tabla 16. Efectos de la fortificación y enriquecimiento en el total de proteína, ARN y ADN en ratas de la 2^o generación (edad promedio 62 días) ¹

Dieta	Proteína/peso cerebro mg/g	ARN/peso cerebro mg/g	ADN/peso cerebro mg/g	Proteína/ADN	ARN/ADN
TMR ²	86.76 ^a	3.86 ^a	5.79 ^a	14.98 ^a	0.66 ^a
TRE ³	91.43 ^a	4.01 ^b	6.11 ^b	14.96 ^a	0.66 ^a
TSYE ³	101.45 ^b	4.30 ^c	6.25 ^c	16.23 ^b	0.69 ^a
TQPME ³	99.64 ^b	4.23 ^c	6.28 ^c	15.86 ^b	0.67 ^a
TQPMSYE ³	102.63 ^b	4.27 ^c	6.25 ^c	16.42 ^b	0.68 ^a
Control ³	109.61 ^c	4.31 ^c	6.36 ^d	17.23 ^c	0.68 ^a

¹ Análisis de varianza. Los valores de cada columna con diferentes letra(s) difieren significativamente ($p < 0.05$, Prueba de comparación múltiple de Duncan).

² $n = 3$.

³ $n = 6$.

Los efectos del enriquecimiento de la harina nixtamalizada de maíz con vitaminas y minerales se puede apreciar observando las diferencias registradas entre los tratamientos de TRE y TMR. En los análisis cerebrales se encontraron diferencias significativas entre el

tamaño del cerebro, cantidad de mielina y ARN cerebral en ambos tratamientos en las dos generaciones estudiadas. Se observó que el enriquecimiento no influyó en el peso del cerebelo, cantidad de proteína en el cerebro, cantidad de ADN cerebral así como la densidad de sinapsis entre neuronas.

Si comparamos las ratas de la dieta TRE y las alimentadas con la dieta TQPME podremos observar el beneficio de utilizar el maíz QPM sobre el maíz regular. En los análisis cerebrales de la primera generación se encontraron diferencias significativas entre el tamaño del cerebro, cerebelo, cantidad de mielina, densidad de sinapsis en neuronas, proteína y ARN cerebral, tamaño de neuronas (proteína/ADN) y actividad cerebral (ARN/ADN) todas favorables a la dieta elaborada con maíz QPM. En la segunda generación se encontró las mismas diferencias a excepción de la cantidad de mielina, densidad de sinapsis y actividad cerebral (ARN/ADN) en las cuales no se observaron diferencias significativas entre tratamientos.

Para determinar el efecto de la fortificación con soya en las tortillas se compararon los resultados de la dieta TRE (maíz regular enriquecido) vs. la dieta TSYE (maíz regular enriquecido + 6% de soya) y por separado compararemos las dietas TQPME (maíz QPM enriquecido) y TQPMSYE (maíz QPM enriquecido + 3% de soya). El análisis de los cerebros de las ratas de la primera generación mostró diferencias significativas en todos los parámetros entre las dietas TRE y TSYE (peso del cerebro, cerebelo, cantidad de mielina, densidad de sinapsis, cantidad de proteína, ARN y las relaciones proteína/ADN y ARN/ADN). Las dietas TQPME y TQPMSYE difirieron sólo en peso del cerebro y cerebelo. En la segunda generación las dietas TRE y TSYE difirieron en los mismos

parámetros a excepción de la densidad de sinapsis y la relación ARN/ADN. Como en la primera generación las dietas TQPME y TQPMSYE difirieron en el peso de cerebro y cerebelo en la segunda generación.

Al comparar las dos dietas fortificadas con soya (TSYE vs. TQPMSYE) no se encontraron diferencias significativas en ningún análisis efectuado al cerebro y cerebelo en ambas generaciones, por lo que el uso de maíz QPM puede ahorrar la mitad de soya requerida.

Estudio de memoria y desempeño de aprendizaje

Al realizar las pruebas para evaluar la memoria de corto plazo de las ratas de la primera generación (Tabla 12) se observó que no existieron diferencias significativas en cuanto al tiempo en que las ratas demoraron en encontrar la plataforma. En cuanto al número de cuadrantes erróneos en que las ratas entraron hasta encontrar la plataforma se

observó que las ratas control fueron las que menos se equivocaron, seguidas por las dietas TSYE, TQPMSYE y TQPME y por último las contrapartes alimentadas con las dietas TRE[®] y TMR. Con estos resultados se puede concluir que las ratas mal alimentadas encontraron la plataforma por prueba y error (nadaban rápidamente en zigzag hasta localizar la plataforma), en cambio las ratas bien alimentadas recordaban en que sector se encontraba la plataforma y con un nadado menos veloz la buscaban y encontraban.

Tabla 17. Efectos de la fortificación y enriquecimiento en el Laberinto de Morris, Prueba de Salida Constante (Memoria de Corto Plazo) en ratas de la 1^o generación (edad promedio 64 días)¹

Dieta	Latencia (s)	No. de errores
TMR ²	15.1 ^a	4.5 ^c
TRE ³	14.3 ^a	4.3 ^c
TSYE ³	13.9 ^a	3.9 ^b
TQPME ³	14.4 ^a	3.7 ^b
TQPMSYE ³	13.6 ^a	3.6 ^b
Control ³	13.6 ^a	2.1 ^a

¹ Análisis de varianza. Los valores de cada columna con diferentes letra(s) difieren significativamente ($p < 0.05$, Prueba de comparación múltiple de Duncan)

² $n = 8$.

³ $n = 9$.

Al realizar las pruebas para evaluar la memoria de corto plazo de las ratas de la segunda generación (Tabla 13) se observó que las ratas de la dieta TMR no pudieron completar la prueba ya que no tenían la fuerza suficiente y tendían a ahogarse. Se encontró que las ratas de la dieta TRE obtuvieron la mayor latencia y así mismo el mayor número de errores junto con la dieta TQPME. Las ratas alimentadas con la dieta control y las fortificadas se desempeñaron mejor. Se encontró una correlación muy significativa entre la latencia y número de errores entre la prueba de memoria a corto plazo en esta segunda generación y los PDECAAS (Latencia=0.961, $P < 0.01$ y no. de errores=0.889, $P < 0.05$). Estos resultados están acordes con las investigaciones de Celedon et al. (1982) y Wetzel et al. (1979) los cuales encontraron relación entre la desnutrición en ratas y las pruebas de memoria de corto y de largo plazo. Aunque algunos investigadores no han podido observar ninguna correlación (ej. Bedi 1992 y Nagy et al. 1991).

Tabla 18. Efectos de la fortificación y enriquecimiento en el Laberinto de Morris, Prueba de Salida Constante (Memoria de Corto Plazo) en ratas de la 2ª generación (edad promedio 58 días)¹

Dieta	Latencia (s)	No. de errores
TMR ²	----- ³	----- ³
TRE ³	18.6 ^b	4.3 ^b
TSYE ³	13.4 ^a	3.6 ^a
TQPME ³	13.8 ^a	4.1 ^b
TQPMSYE ³	13.1 ^a	3.2 ^a
Control ³	12.7 ^a	2.9 ^a

¹ Análisis de varianza. Los valores de cada columna con diferentes letra(s) difieren significativamente ($p < 0.05$, Prueba de comparación múltiple de Duncan).

² n= 6.

³ No hubo ratas que pudieran completar la prueba.

Si comparamos el desempeño de las dos generaciones en las pruebas de memoria de corto plazo (Tabla 14) encontramos que la dieta TRE obtuvo diferencia significativa en la latencia entre las dos generaciones, lo que no se observó en las otras dietas por lo que podemos observar el beneficio de la fortificación de las dietas.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tabla 19. Comparación de los efectos de la fortificación y enriquecimiento en el Laberinto de Morris, Prueba de Salida Constante (Memoria de Corto Plazo) en ratas de la 1° y 2° generación.¹

Dieta		Latencia (s)	No. de errores
TMR	1° Generación ²	15.1	4.5
	2° Generación	----- ⁵	----- ⁵
TRE	1° Generación ³	14.3 ^a	4.3 ^a
	2° Generación ⁴	18.6 ^b	4.3 ^a
TSYE	1° Generación ³	13.9 ^a	3.9 ^a
	2° Generación ⁴	13.4 ^a	3.6 ^a
TQPME	1° Generación ³	14.4 ^a	3.7 ^a
	2° Generación ⁴	13.8 ^a	4.1 ^a
TQPMSYE	1° Generación ³	13.6 ^a	3.6 ^a
	2° Generación ⁴	13.1 ^a	3.2 ^a
Control	1° Generación ³	13.6 ^a	2.1 ^a
	2° Generación ⁴	12.7 ^a	2.9 ^a

¹ Análisis de varianza. Los valores de cada tratamiento en cada columna con diferentes letra(s) difieren significativamente ($p < 0.05$, Prueba de comparación múltiple de Duncan).

² $n = 8$.

³ $n = 9$.

⁴ $n = 6$.

⁵ No hubo ratas que pudieran completar la prueba.

En la prueba de memoria a largo plazo (Tabla 15) las ratas alimentadas con las dietas control y fortificadas resolvieron la prueba en promedio a los 3.4 días a diferencia de las dietas TRE y TMR que los resolvieron a los 5.1 días, lo que nos da una diferencia alrededor del 50% más de tiempo para encontrar la plataforma.

Tabla 20. Efectos de la fortificación y enriquecimiento en el Laberinto de Morris, Prueba de Salida Constante con intervalos de 1 día (Memoria de Largo Plazo) en ratas de la 1° generación. (edad promedio 64 días) ¹

Dietas	# de intentos hasta respuesta positiva
TMR ²	4.9 ^b
TRE ³	5.3 ^b
TSYE ³	3.3 ^a
TQPME ³	3.1 ^a
TQPMSYE ³	3.9 ^a
Control ³	3.6 ^a

¹ Análisis de varianza. Los valores de cada columna con diferentes letra(s) difieren significativamente ($p < 0.05$, Prueba de comparación múltiple de Duncan).

² $n = 8$.

³ $n = 9$.

En la segunda generación los efectos de la mala nutrición en las prueba de memoria de largo plazo (Tabla 16) se hacen más evidentes, ya que las ratas alimentadas con la dieta TMR no pudieron completar la prueba por el estado tan evidente de desnutrición presentada, las ratas alimentadas con la dieta TRE tardaron 9.4 días en completar la prueba, muy por arriba del promedio de las ratas alimentadas con las dietas control, TQPME, TSYE y TQPMSYE que fue de 5.2 días. Las ratas alimentadas con la dieta TRE tardaron más del 80% del tiempo en comparación al promedio de las demás dietas.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tabla 21. Efectos de la fortificación y enriquecimiento en el Laberinto de Morris, Prueba de Salida Constante con intervalos de 1 día (Memoria de Largo Plazo) en ratas de la 2ª generación (edad promedio 58 días) ¹

Dieta	# de intentos hasta respuesta positiva
TMR	--- ³
TRE ²	9.4 ^b
TSYE ²	5.1 ^a
TQPME ²	6.2 ^a
TQPMSYE ²	5.2 ^a
Control ²	4.1 ^a

¹ Análisis de varianza. Los valores de cada columna con diferentes letra(s) difieren significativamente ($p < 0.05$, Prueba de comparación múltiple de Duncan).

² $n = 6$.

³ No hubo ratas que pudieran completar la prueba.

En todos los tratamientos se observaron diferencias entre las dos generaciones en la prueba de memoria a largo plazo (Tabla 17) a excepción de la dieta control. Se puede apreciar el efecto que tiene la falta de nutrientes en las etapas prenatal y de lactancia en el desempeño de la prueba de memoria a largo plazo.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tabla 22. Efectos de la fortificación y enriquecimiento en el Laberinto de Morris, Prueba de Salida Constante con intervalos de 1 día (Memoria de Largo Plazo) en ratas de la 1º y 2º generación.¹

Dieta		# de intentos hasta respuesta positiva
TMR	1º. Generación ²	4.9
	2º. Generación	----- ⁵
TRE	1º. Generación ³	5.3 ^a
	2º. Generación ⁴	9.4 ^b
TSYE	1º. Generación ³	3.3 ^a
	2º. Generación ⁴	5.1 ^b
TQPME	1º. Generación ³	3.1 ^a
	2º. Generación ⁴	7.2 ^b
TQPMSYE	1º. Generación ³	3.9 ^a
	2º. Generación ⁴	5.2 ^b
Control	1º. Generación ³	3.6 ^a
	2º. Generación ⁴	4.1 ^a

¹ Análisis de varianza. Los valores de cada tratamiento en cada columna con diferentes letra(s) difieren significativamente ($p < 0.05$, Prueba de comparación múltiple de Duncan).

² $n = 8$.

³ $n = 9$.

⁴ $n = 6$.

⁵ No hubo ratas que pudieran completar la prueba.

En la prueba de memoria de trabajo (Tabla 18) que se realizó después de las pruebas

de memoria de corto y largo plazo no se observaron diferencias significativas de la latencia

entre tratamientos y sorprendentemente encontramos que la dieta TMR obtuvo el menor

número de errores. Este comportamiento se puede explicar ya que la prueba de memoria de

trabajo involucra el cambio de lugar de la plataforma, las ratas mejor alimentadas tendían a

buscar la plataforma en el lugar de costumbre, en cambio las ratas mal alimentadas se

movían en zigzag y encontraban la plataforma con menos errores.

Tabla 23. Efectos de la fortificación y enriquecimiento en el Laberinto de Morris, Prueba de Salida Variable (Memoria de Trabajo) en ratas de la 1^o generación (edad promedio 64 días)¹

Dieta	Latencia (s)	No. de errores
TMR ²	16.2 ^a	4.2 ^a
TRE ³	16.7 ^a	5.7 ^b
TSYE ³	17.1 ^a	6.8 ^c
TQPME ³	16.4 ^a	5.8 ^b
TQPMSYE ³	16.8 ^a	7.9 ^d
Control ³	17.2 ^a	5.7 ^b

¹ Análisis de varianza. Los valores de cada columna con diferentes letra(s) difieren significativamente ($p < 0.05$, Prueba de comparación múltiple de Duncan).

² $n = 8$.

³ $n = 9$.

En la prueba de memoria de trabajo (Tabla 19) realizada a la segunda generación el comportamiento de los tratamientos difirió a los de la primera. Se encontró que las dietas control, TQPMSYE y TSYE obtuvieron los menores tiempos de latencia, seguido por la dieta TQPME y por último la dieta TRE. Las ratas alimentadas con la dieta TMR igual que las pruebas anteriores no pudieron completar la experimentación. Tonkiss et al. (1994) estudiaron el desempeño de ratas de laboratorio en pruebas de memoria de trabajo con mala nutrición prenatal y de lactancia utilizando este mismo procedimiento, observando que las ratas con déficit nutricio prenatal tuvieron diferencias significativas con respecto a las ratas control. Este comportamiento no se observó en ratas con mala nutrición sólo en la etapa de lactación.

Tabla 24. Efectos de la fortificación y enriquecimiento en el Laberinto de Morris, Prueba de Salida Variable (Memoria de Trabajo) en ratas de la 2^o generación (edad promedio 58 días)¹

Dieta	Latencia (s)	No. de errores
TMR	---	---
TRE ²	28.9 ^c	8.6 ^c
TSYE ²	20.2 ^a	5.1 ^a
TQPME ²	23.6 ^b	7.6 ^{bc}
TQPMSYE ²	21.1 ^a	6.1 ^b
Control ²	18.9 ^a	6.8 ^b

¹ Análisis de varianza. Los valores de cada columna con diferentes letra(s) difieren significativamente ($p < 0.05$, Prueba de comparación múltiple de Duncan).

² $n = 6$.

³ No hubo ratas que pudieran completar la prueba.

En todos los tratamientos se observaron diferencias entre las dos generaciones en la prueba de memoria de trabajo (Tabla 20) a excepción de la dieta control y en la latencia de la dieta TSYE. Por lo tanto se pudo apreciar el efecto que tiene la falta de nutrimentos en las etapas prenatal y de lactancia en el desempeño de la prueba de memoria de trabajo.

Tonkiss et al. (1994) relacionaron el desempeño en pruebas de memoria de trabajo en un laberinto de Morris con la calidad nutricia de la lactación de la rata, concluyendo que entre mejor era la dieta de la madre, mejor era el desempeño en las pruebas de las crías.

Tabla 25. Efectos de la fortificación y enriquecimiento en el Laberinto de Morris, Prueba de Salida Variable (Memoria de Trabajo) ratas de la 1° y 2° generación.¹

Dieta		Latencia (s)	No. de errores
TMR	1° Generación ²	16.2 ^a	4.2 ^a
	2° Generación	----- ⁵	----- ⁵
TRE	1° Generación ³	16.7 ^a	5.7 ^a
	2° Generación ⁴	28.9 ^b	8.6 ^b
TSYE	1° Generación ³	17.1 ^a	6.8 ^b
	2° Generación ⁴	20.2 ^a	5.1 ^a
TQPME	1° Generación ³	16.4 ^a	5.8 ^a
	2° Generación ⁴	23.6 ^b	7.6 ^b
TQPMSYE	1° Generación ³	16.8 ^a	7.9 ^b
	2° Generación ⁴	21.1 ^b	6.1 ^a
Control	1° Generación ³	17.2 ^a	5.7 ^a
	2° Generación ⁴	18.9 ^a	6.8 ^a

¹ Análisis de varianza. Los valores de cada tratamiento en cada columna con diferentes letra(s) difieren significativamente ($p < 0.05$, Prueba de comparación múltiple de Duncan).

² $n = 8$.

³ $n = 9$.

⁴ $n = 6$.

⁵ No hubo ratas que pudieran completar la prueba.

En la prueba de desempeño de aprendizaje (Tabla 21) se puede ver que las dieta

control, TSYE y TQPMSYE obtuvieron la menor latencia, seguida de la dieta TQPME y por último la dieta TRE. Sin embargo no se encontró alguna correlación entre los

PDECAAS y el desempeño de aprendizaje en esta primera generación.

Tabla 26. Efectos de la fortificación y enriquecimiento en el Laberinto de Morris, Prueba de Salida y Plataforma Variables (Desempeño de Aprendizaje) en ratas de la 1^o generación (edad promedio 64 días)¹

Dieta	Latencia (s)	No. de errores
TMR	---- ³	---- ³
TRE ²	32.1 ^c	18.4 ^a
TSYE ²	21.3 ^a	9.5 ^a
TQPME ²	26.4 ^b	12.6 ^b
TQPMSYE ²	21.4 ^a	11.4 ^a
Control ²	19.6 ^a	12.3 ^{ab}

¹ Análisis de varianza. Los valores de cada columna con diferentes letra(s) difieren significativamente ($p < 0.05$, Prueba de comparación múltiple de Duncan).

² $n = 9$.

³ No hubo ratas que pudieran completar la prueba.

En la segunda generación de la prueba de desempeño de aprendizaje (Tabla 25) las dietas TMR y TRE no pudieron completar la prueba. Se observó un comportamiento de la prueba esperado, ya que la dieta control tuvo la menor latencia, seguida de las dietas TQPMSYE y TSYE y por último la dieta TQPME. Se obtuvo una correlación altamente significativa entre los PDECAAS y la latencia y número de errores (0.946, $P < 0.05$ y 0.965, $P < 0.01$ respectivamente).

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tabla 27. Efectos de la fortificación y enriquecimiento en el Laberinto de Morris, Prueba de Salida y Plataforma Variables (Desempeño de Aprendizaje) en ratas de la 2ª generación. (edad promedio 58 días)¹

Dieta	Latencia (s)	No. de errores
TMR	---- ³	---- ³
TRE	---- ³	---- ³
TSYE ²	34.4 ^b	15.4 ^b
TQPME ²	42.4 ^c	16.7 ^b
TQPMSYE ²	32.9 ^b	14.8 ^b
Control ²	19.3 ^a	8.4 ^a

¹ Análisis de varianza. Los valores de cada columna con diferentes letra(s) difieren significativamente ($p < 0.05$, Prueba de comparación múltiple de Duncan).

² $n = 6$.

³ No hubo ratas que pudieran completar la prueba.

En todos los tratamientos se observaron diferencias entre las dos generaciones en la prueba de desempeño de aprendizaje (Tabla 26) a excepción de la dieta control (latencia). Se puede apreciar el efecto que tiene la falta de nutrientes en las etapas prenatal y de lactancia en el desempeño de aprendizaje. Podemos observar las consecuencias del déficit proteico en la dieta en pruebas más complejas; ya que aún las ratas alimentadas con la dieta TRE no pudieron completar esta prueba.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tabla 28. Efectos de la fortificación y enriquecimiento en el Laberinto de Morris, Prueba de Salida y Plataforma Variables (Desempeño de Aprendizaje) en ratas de la 1°. y 2° generación.¹

Dieta		Latencia (s)	No. de errores
TMR	1°. Generación ²	---- ⁵	---- ⁵
	2°. Generación	---- ⁵	---- ⁵
TRE	1°. Generación ³	32.1	18.4
	2°. Generación ⁴	---- ⁵	---- ⁵
TSYE	1°. Generación ³	21.3 ^a	9.5 ^a
	2°. Generación ⁴	34.4 ^b	15.4 ^b
TQPME	1°. Generación ³	26.4 ^a	12.6 ^a
	2°. Generación ⁴	42.4 ^b	16.7 ^b
TQPMSYE	1°. Generación ³	21.4 ^a	11.4 ^a
	2°. Generación ⁴	32.9 ^b	14.8 ^b
Control	1°. Generación ³	19.6 ^a	12.3 ^b
	2°. Generación ⁴	19.3 ^a	8.4 ^a

¹ Análisis de varianza. Los valores de cada tratamiento en cada columna con diferentes letra(s) difieren significativamente ($p < 0.05$, Prueba de comparación múltiple de Duncan).

² $n = 8$.

³ $n = 9$.

⁴ $n = 6$.

⁵ No hubo ratas que pudieran completar la prueba.

Los efectos del enriquecimiento de la harina nixtamalizada de maíz con vitaminas y

minerales se pueden apreciar observando las diferencias registradas entre los tratamientos

de TRE y TMR. En las pruebas de laberinto para determinar memoria y desempeño de

aprendizaje en las ratas de la primera generación no se encontraron diferencias

significativas entre los tratamientos. Es de resaltar que las ratas de la segunda generación

alimentadas con la dieta TMR no realizaron las pruebas por encontrarse en un estado físico

deplorable y por lo tanto no se obtuvieron datos para la comparación. Se ha reportado

(Kirksey et al., 1995) que el bajo consumo de zinc esta relacionado con una atención

disminuida de los niños lactantes, así como el déficit de hierro esta relacionado con

deficiencias motoras y desarrollo mental en infantes (Lozoff, 1990, Walter, 1993). Lokken

et al. (1973) encontró que las crías de ratas alimentadas con dietas deficientes en zinc durante la lactación tuvieron más errores en pruebas de laberinto que las crías de ratas alimentadas con una dieta control a los 44 días de nacidas. Estudios semejantes han encontrado diferencias significativas en las pruebas de memoria de corto plazo, memoria de largo plazo y memoria de trabajo entre ratas cuyas madres no consumieron zinc durante la lactación y las ratas control (Halas y Sandtead, 1980, 1981, 1982). El consumo en el segundo trimestre del embarazo de futuras madres de las vitaminas del complejo B y la niacina se han relacionado con niños lactantes más activos (Rahmannifar et al., 1993). Guilarte (1993) relacionó el consumo de las vitaminas del complejo B con la producción de neurotransmisores.

Si se comparan las ratas de la dieta TRE y las alimentadas con la dieta TQPME se puede observar el beneficio de utilizar el maíz QPM sobre el maíz regular. En las pruebas de laberinto se encontraron diferencias significativas a favor de las dietas con QPM en las pruebas de memoria de largo plazo y desempeño de aprendizaje en la primera generación. En la segunda generación se encontraron diferencias significativas en la memoria de corto y largo plazo y memoria de trabajo, todas a favor de la dieta con maíz QPM. Las ratas de la dieta TRE en la segunda generación no pudieron efectuar la prueba de desempeño de aprendizaje, ya que no tenían la suficiente fuerza para nadar por un período largo de tiempo.

Para determinar el efecto de la fortificación con soya en las tortillas se compararon los resultados de la dieta TRE (maíz regular enriquecido) vs. la dieta TSYE (maíz regular enriquecido + 6% de soya) y por separado se comparó la dieta TQPME (maíz QPM

enriquecido) vs. la dieta TQPMSYE (maíz QPM enriquecido + 3% de soya). En las pruebas de laberinto de las ratas de la primera generación se encontraron diferencias significativas de entre las dietas de TRE y TSYE en las pruebas de memoria de largo plazo y desempeño de aprendizaje. Las dietas TQPME y TQPMSYE difirieron sólo en la prueba de desempeño de aprendizaje. En la segunda generación se obtuvieron diferencias significativas entre las dietas TRE y TSYE en las pruebas de memoria de corto plazo, memoria de largo plazo y memoria de trabajo. En la prueba de desempeño de aprendizaje las ratas TRE no pudieron completar la prueba. Las dietas TQPME y TQMSYE difirieron en la memoria de trabajo y el desempeño de aprendizaje.

Por último comparando las diferencias de las dietas fortificadas con soya (TSYE vs. TQPMSYE) sólo se encontraron diferencias significativas en el número de errores de la prueba de memoria de trabajo en las dos generaciones estudiadas, donde la dieta TSYE obtuvo mejores resultados que la dieta TQPMSYE.

CONCLUSIONES

Con las reservas de poder extrapolar los resultados obtenidos en ratas sobre el enriquecimiento y fortificación de tortillas al ser humano, podemos considerar:

1. La harina nixtamalizada enriquecida con tiamina, riboflavina, niacina, ácido fólico, hierro y zinc demostró sus bondades ante la harina sin enriquecer, ya que las ratas obtuvieron un mayor peso final tras la alimentación tanto en la primera (+27.5%) como en la segunda generación (+26.5%). Así mismo tuvieron mayor retención de nitrógeno en las pruebas metabólicas (VB y NPU= +41%), mayor % de preñez (+107%), número de crías por camada (+88%), peso de las crías al destete (+32%) y mayor % de sobrevivencia de las crías (+101%). Las ratas de la primera generación tuvieron más mielina cerebral (+43%) y más ARN (+10%); en la segunda generación se repitieron los resultados teniendo incluso más ADN cerebral (+6%). En la primera generación las pruebas de memoria y desempeño de aprendizaje no evidenciaron diferencias significativas, sin embargo, es de resaltar que en la segunda generación, las ratas con dietas sin enriquecer no pudieron completar ninguna prueba por el mal estado físico en que se encontraban.
2. La utilización de maíz QPM en lugar del maíz regular para hacer tortillas presenta grandes beneficios a la dieta, aunque no aumentó la cantidad de las proteínas significativamente en la dieta típica Otomí, si se incrementó sustancialmente el valor de aminoácidos esenciales (72.5% vs. 58.6%), resultando las ratas con mayor ganancia de peso, Valor Biológico y Utilización Neta de Proteínas, mayor % de

preñez de las ratas, así como mayor número de crías por camada, peso al destete y % de sobrevivencia. Las ratas de la primera generación tuvieron cerebros y cerebelos más grandes, con más mielina, mayor % de sinapsis entre neuronas, más proteína y ARN, ocasionando mayor tamaño de neuronas y mayor actividad metabólica cerebral. En la segunda generación se encontraron diferencias en el tamaño de cerebro y cerebelo, mayor cantidad de proteínas, ARN, ADN y mayor tamaño de neuronas. Así mismo se encontraron en la primera generación diferencias significativas en la memoria de largo plazo y desempeño de aprendizaje. En la segunda generación se observaron diferencias significativas en la memoria de corto plazo, memoria de largo plazo, memoria de trabajo y desempeño de aprendizaje. Se pudo claramente observar cómo se ampliaron los parámetros diferenciales en la segunda generación de ratas, por lo que se demuestra los beneficios que presenta el maíz QPM si se incorporara a la dieta del Mexicano.

3. El fortificar la harina regular con 6% de soya incrementa la calidad de la dieta considerablemente comparado con la dieta sin fortificar. El porcentaje de proteína se incrementó aproximadamente un 17% y el valor de aminoácidos esenciales aproximadamente un 38%, encontrando un mayor crecimiento, Valor Biológico y Utilización Neta de Proteínas. Así mismo se incrementó el % de preñez (+28%), número de crías (+40%), peso de crías al destete (+23%) y % de sobrevivencia (+40%). Se encontró que las ratas con la dieta fortificada en la primera generación tuvieron cerebros y cerebelos más grandes, más mielina, mayor sinapsis entre neuronas, más proteína, más ARN, ocasionando mayor tamaño de neuronas y mayor actividad metabólica cerebral. En la segunda generación se obtuvieron los mismos resultados a excepción de la sinapsis entre neuronas y actividad

metabólica donde no se encontraron diferencias significativas, pero se encontró que las dietas fortificadas tenían más ADN cerebral en las ratas de la segunda generación.

4. La diferencia entre las dietas con harina QPM y la QPM fortificada con 3% de soya no fue tan grande como entre la dieta harina regular y harina regular fortificada, debido al mejor balance de aminoácidos de la harina QPM, sin embargo la fortificación con soya logró que la dieta Otomí se incrementara un 10% de proteína y un 16% el valor de aminoácidos esenciales respecto a la dieta sin fortificar. Los efectos de este incremento en proteínas no se vio reflejado en el estudio metabólico y reproductivo. Sin embargo las ratas de la dieta fortificada tuvieron cerebros y cerebelos más grandes en la primera y segunda generación. En las pruebas de memoria, las ratas con la dieta fortificada obtuvieron mejores resultados en la prueba de desempeño de aprendizaje en la primera y segunda generación, así mismo en la segunda generación se observaron diferencias significativas en la prueba de memoria de trabajo.

5. No se observaron diferencias significativas entre la harina de maíz regular fortificada con 6% de soya y la harina de maíz QPM fortificada con 3% de soya. Aunque el contenido de proteína fue mayor en la dieta con maíz regular fortificado con soya (11.0% vs. 10.5%), el valor de aminoácidos esenciales fue mayor en la dieta con maíz QPM fortificado con soya (84.5% vs. 81%). No se encontraron diferencias en cuanto al crecimiento y el estudio metabólico en ratas, aunque las ratas alimentadas con la dieta QPM fortificada tuvieron mayor ganancia de peso por cantidad de proteína consumida en las dos generaciones. No se encontraron diferencias en los estudios reproductivo y cerebral. En las pruebas en laberintos las

ratas alimentadas con la dieta de maíz regular con y 6% de soya superaron a las de la dieta QPM en sólo el número de errores en la prueba de memoria de trabajo en las dos generaciones. En vista de estos resultados podemos concluir que la fortificación de las tortillas regulares o QPM a los niveles estudiados con soya se obtienen resultados similares, con la ventaja económica que el maíz QPM no tiene costos extras en su siembra y manejo comparado con el maíz regular y se puede disminuir a la mitad la concentración de la soya.

6. La prueba del valor del aminoácido esencial limitante corregido por la digestibilidad aparente de proteína (PDECAAS) puede correlacionarse con algunos de los parámetros estudiados como: el peso del cerebro y cerebelo (ambas generaciones); contenido de ADN cerebral, memoria de trabajo y desempeño de aprendizaje en ratas de la segunda generación.

7. Las ratas de la segunda generación de las dietas sin fortificar mostraron las carencias de nutrimentos en la etapa prenatal y de lactancia al obtener valores

inferiores a sus madres en cuanto a: peso al destete, ganancia de peso, conversión proteica, memoria de corto plazo, memoria de largo plazo, memoria de trabajo y desempeño de aprendizaje.

8. La fortificación y enriquecimiento de la tortilla acarrearía a mediano y largo plazo beneficios nutrimentales a la población Mexicana, especialmente a la comunidad de más bajos recursos que consumen principalmente la tortilla en su dieta.

BIBLIOGRAFÍA

- Adams, R.D., Victor, M., Ropper, A.H. 1997. Diseases of the nervous system due to nutritional deficiency. En: Principles of Neurology. VI Edition. McGraw Hill. 1138-65.
- Agarwal, D.K., Upadhyay, S.K., Agarwal, K.N. 1989. Influence of malnutrition on cognitive development. Acta Paediatr. Scand. 78(1): 115-22.
- Ahmed, M.G., Bedi, K.S., Warren, M.A. et al. 1987. Effects of the lengthy period of undernutrition from birth and subsequent nutritional rehabilitation on the synapse:granule cell neuron ratio in the rat dentate gyrus. J. Comp. Neurol. 263(1): 146-58.
- Alexander, M.H., Lazan, K.S., and Rasmussen K.M. 1988. Effect of the chronic protein-energy malnutrition on fecundability, fecundity and fertility in rats. J. Nutr. 118(7): 883-887.
- Almeida, S.S., Tonkiss, J., Galler, J.R. 1996. Prenatal malnutrition affects avoidance but not escape behavior in the elevated T-maze test. Physiol. Behav. 60(1): 191-195.
- Altman, J. 1986. An animal model of minimal brain dysfunction. En: Lewis, M. Ed. Learning disabilities and prenatal risk. Chicago, IL. University of Illinois Press. 261-304.
- Altman, J. 1987. Morphological and behavioral markers of environmentally induced retardation of brain development: an animal model. Environ. Health Perspect. 74: 153-68.
- Angulo-Colmenares, A.G., Vaughan, D. W., Hinds, J.W. 1979. Rehabilitation following early malnutrition in the rat: body weight, brain size, and cerebral cortex development. Brain Res. 169: 121-138.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990. Official Methods of Analysis. Ed. K. Helrich. 15th edición. A.O.A.C., Inc., Arlington, VA.

- Atkinson, R.C., Shiffrin, R.M. 1968. Human memory: A proposed system and its control processes. En: K.W. Spence y J.T. Spence, eds. The psychology of learning and motivation (Vol. 2). New York: Academic Press.
- Barnet, A.B., Weiss, I.P., Sotillo, M.V. 1978. Abnormal auditory evoked potentials in early infancy malnutrition. *Science* 201: 450-52.
- Barrett, D.E., Frank, D.A. 1987. The effects of undernutrition on children's behavior. New York: Gordon and Breach
- Bartel, P.R., Robinson, E., Conradie, J.M. 1986. Brainstem auditory evoked potentials in severely malnourished children with kwashiorkor. *Neuropediatrics* 17(4): 178-82.
- Beadle, G. F. 1972. The mystery of maize. *Field Mus. Nat. Hist. Bull.* 43(10): 2-11.
- Beadle, G. F. 1986. The origin of corn. *Scientific American.* 254(8): 80-86.
- Bedi, K.S. 1992. Spatial learning ability of rats undernourished during early postnatal life. *Physiol. Behav.* 51: 1001-1007.
- Bernochi, G., Scherini, E. 1980. Cytochemical data on DNA and protein nuclear content during the prenatal cerebellar histogenesis in the rat: Effects of maternal protein malnutrition. *Cell Mol. Biol.* 26: 405-413.
- Bliss, T.V., Lomo, T. 1973. Long-Lasting Potentiation of synaptic transmission in the area dentata of the anesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *Journal of Physiology.* 232: 331-356.
- Boyer, C.D., Shannon, J.C. 1987. Carbohydrates of the kernel. En S.A. Watson & P.E. Ramstad, eds. *Corn: Chemistry and Technology.* Am. Assoc. Cereal Chem. St Paul, Minn.
- Bressani, R., Mertz, E.T. 1958. Studies on corn protein. IV. Protein and amino acid content of different corn varieties. *Cereal Chem.*, 35: 227-235.

- Bressani, R., Gómez-Brenes, R., Scrimshaw, N.S. 1961. Effect of processing on distribution and in vitro availability of niacin of corn (*Zea mays*). *Food Technol.* 15: 450-454.
- Bressani, R., Marengo, E. 1963. Corn flour supplementation: the enrichment of lime-treated corn flour with proteins, lysine and tryptophan and vitamins. *J. Agric. Food Chem.* 11: 517-522.
- Bressani, R., Elias, L.G., Graham, J.E. 1968. Suplementación con aminoácidos del maíz y de la tortilla. *Arch. Latinoam. Nutr.* 18: 123-134.
- Bressani, R., Murillo, B., Elias, L.G. 1974. Whole soybeans as a means of increasing protein and calories in maizebased diets. *J. Food Sci.* 39: 577-580.
- Bressani, R., Graham, J.E., Elias, L.G., Rubio, M. 1979. Further studies on the enrichment of lime-treated corn with whole soybeans. *J. Food Sci.* 44: 1707-1710.
- Bressani, R., Breuner, M., Ortiz, M.A. 1989. Contenido de fibra ácido y neutro-detergente y de minerales menores en maíz y su tortilla. *Arch. Latinoam. Nutr.* 39: 382-391.
- Bressani, R. 1990a. Chemistry, technology and nutritive value of maize tortillas. *Food Rev. Int.*, 6: 225-264.
- Bressani, R., Benavides, V., Acevedo, E., Ortiz, M.A. 1990b. Changes in selected nutrient content and in protein quality of common and quality protein maize during tortilla preparation. *Cereal Chem.* 67(6): 515-518.
- Brock, J.F. 1961. Protein malnutrition, requirements and supplementation. En: *Progress in meeting protein needs of infants and preschool children*. Ed. NRC Washington D.C., Natl. Acad. Sci., Natl. Res. Counc. Pub. 103-118.
- Brock, J.W., Prasad, C. 1992. Alterations in dendritic spine density in the rat brain associated with protein malnutrition. *Brain Res. Dev. Brain Res.* 66(2): 266-269
- Brown, J.L., Pollit, E. 1996. Malnutrition, poverty and intellectual development. *Scientific American.* 2: 26-31

Burge, R.M., Duensing, W.J. 1989. Processing and dietary fiber ingredient applications of corn bran. *Cereal Foods World*. 34: 535-538.

Burton, K.A. 1956. A study of the conditions and mechanism of the colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid. *Biochem. J.* 62: 315-323.

Carlson W.R. 1988. The cytogenetics of corn. En: *Corn and corn improvement*. G.F Sprague and J.W. Dudley, eds. *Agronomy Monographs No.18*. American Society of Agronomy. Madison, Wisconsin. 259-344.

Celedon, J.M., Smart, J.L. and Dobbing, J. 1982. Effects of level of motivation on visual discrimination transfer of learning, and long-term memory in previously undernourished and control rats. *Nutr. Behav.* 1: 89-97.

Chase, H.P., Dorsey, J., McKhann, G.M. 1967. The effect of malnutrition in the synthesis of myelin lipid. *Pediatrics*. 40: 551-559.

Chattopadhyay, N., R. Kher, M. Godbole. 1993. Inexpensive SDS/phenol method for RNA and DNA extraction from tissues. *BioTechniques*. 15: 24-25.

Chávez, A., M. de Chávez, M., Roldan, J.A., Bermejo, S., Avila, A. 1993. *La Nutrición en México y la Transición Epidemiológica*. INNSZ. México, D.F.

Chen, JC, Tonkiss, J, Galler, JR. 1992. Prenatal malnutrition enhances serotonin release from the hippocampus. *J. Nutr.* 122: 2138-2143.

Chopra, J.S., Sharma, A. 1992. Protein energy malnutrition and the nervous system. *J. Neurol. Sci.* 110(2): 8-20.

Christianson, D.D., Wall, J.S., Dimler, R.J., Booth, A.N. 1968. Nutritionally available niacin in corn. Isolation and biological activity. *J. Agric. Food Chem.* 16: 100-104.

CIMMYT. 1994. *CIMMYT 1993/94 World Maize Facts and Trends*. Maize Seed Industries Revisited: Emerging Roles of the Public and Private Sectors. México, D.F.

Cintra, L, Díaz-Cintra, S, Galvin, A. 1990. Effects of protein undernutrition on the dentate gyrus in rats of three age groups. *Brain Res.* 532: 271-277.

Claus, D., Neundorfer, B., Warecka, K. 1984. The influence of vitamin B6 deficiency on somatosensory stimulus conduction in the rat. *Eur. Arch. Psychiatry Neurol. Sci.* 234(2): 102-105.

Coe, E.H., Neuffer, M.G., D.A. Hoisington. 1988. The genetics of corn. En: *Corn and corn improvement.* G.F Sprague and J.W. Dudley, (eds.). Agronomy Monographs No.18. American Society of Agronomy: Madison, Wisconsin. 81-258.

Cordero, ME, Trejo, M, Garcia, E. 1985. Dendritic development in the neocortex of adult rats subjected to postnatal malnutrition. *Early Hum. Dev.* 12(3): 309-21.

Craik, F.I.M., Lockhart, R.S. 1972. Levels of processing: A framework for memory research. *Journal of Verbal Learning & Verbal Behavior.* 11: 671-684.

Cravioto, R.O., Anderson, R.K., Lockhart, E.E., De Miranda, F. de P., Harris, R.S. 1945. Nutritive value of the Mexican tortilla. *Science.* 102: 91.

Culley, W.J., Lineberger, R.O. 1968. Effect of undernutrition on the size and composition of the rat brain. *J. Nutr.* 96: 375- 381.

Davies, CA, Katz, HB. 1983. The comparative effects of early-life undernutrition and subsequent differential environments on the dendritic branching of pyramidal cells in rat visual cortex. *J. Comp. Neurol.* 218(3): 345-50.

Davison, A.N., Dobbing, J. 1966. Myelination as a vulnerable period in brain development. *Brit. Med. Bull.* 22: 40.

Del Valle, F.R. 1972. Industrial production, distribution and marketing of maize flour for tortilla in Mexico. En R. Bressani, J.E. Braham, M. Béhar, eds. *Nutritional improvement of maize.* INCAP Pub. L-4. Guatemala, INCAP. 57-83.

Del Valle, F.R., Pérez-Villasenor, J. 1974. Enrichment of tortillas with soy proteins by lime cooking of whole raw soybean mixtures. *J. Food Sci.*, 39: 244-247.

Delaney, A.J., Samorajski, T., Fuller, G.N. 1981. A morphometric comparison of central and peripheral hypomyelination induced by postnatal undernourishment of rats. *J. Nutr.* 111: 746-754.

Deschamps, A.I. 1985. Aprovechamiento industrial del maíz en la manufactura de productos alternos a los de panificación originados en el trigo. Congreso Tecnología Alimentos, Viña del Mar, Chile.

DeWet, J. M. J., Harlan, J. R. 1972. Origin of maize. The tripartite hypothesis. *Euphytica* 21: 271- 279.

Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T. 1981. The effects of protein deprivation on the nucleus raphe dorsalis: a morphometric golgi study in rats of three age groups. *Brain Res.* 221: 243-255.

Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T. 1984. The effects of protein deprivation on the nucleus locus coeruleus: a morphometric golgi study in rats of three age groups. *Brain Res* 304: 243-253.

Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Ortega, A. 1990. Effects of protein deprivation on pyramidal cells of the visual cortex in rats of three age groups. *J. Comp. Neurol.* 292(1): 117-126.

Doebley, J. F., Goodman, M. M., Stuber, C. W. 1984. Isoenzymatic variation in *Zea* (Gramineae). *Syst. Bot.* 9(2): 203-218.

Doebley, J., Stec, A., Wendel, J., Edwards, M. 1990. Genetic and morphological analysis of a maize-teosinte F2 population: implications for the origin of maize. *Proc. Ntl. Acad. Sci.* 87: 9888- 9892.

Doebley, J., A. Stec. 1991. Genetic analysis of the morphological differences between maize and teosinte. *Genetics.* 129: 285-295.

Eggum B.O, Villegas E., Vasal S.K. 1979. Progress in protein quality of maize. *J. Sci. Food Agric.* 30: 1148.

Eubanks, M. 1995. A cross between two maize relatives: *Tripsacum dactyloides* and *Zea diploperennis* (Poaceae). *Economic Botany.* 49 (2): 172-182.

FAO. 2003. Statistical database. Página electrónica: <http://www.fao.org>.

FAO/WHO. 1990. Protein Quality Evaluation Report of the Joint FAO/WHO Expert Consultation on Protein Quality Evaluation., Roma, Italia. FAO Food and Nutrition Paper No. 51.

Folch, J., Lees, M., Sloane-Stanley, G.H. 1957. A simple method for the isolation and purification of myelin in animal tissues. *J. Biol.. Chem.* 226: 479-509.

Friggers, N.C., Hay, D.E., Oldham, J.D. 1993. Interactions between major nutrients in the diet and the lactation performance of rats. *Br. J. Nutr.* 69(1): 59-71.

Fuller, G.N., Johnston, D.A., Wiggins, R.C. 1984. The relationship between nutritional adequacy and brain myelin accumulation: a comparison of varying degrees of well fed and undernourished rats. *Brain Res.* 290(1): 195-198.

Galinat, W. C. 1977. The origin of corn. En Sprague, G. F., ed. *Corn and Corn Improvement.* Amer. Soc. Agron. Madison, WI. 1- 47.

Gohub, M.S., Keen, C.L., Gershwin, M.E., Hendrichx, A.G. 1995. Development zinc deficiency and behavior. *J. Nutr.* 125: 2263S-2271S.

Gómez, F., Ramos-Galván, R., Cravioto, J., Frenk, S., de la Pena, C., Moreno, M.E., Villa, M.E. 1957. Protein metabolism in chronic severe malnutrition (kwashiorkor). Absorption and retention of nitrogen from a typical poor Mexican diet. *Br. J. Nutr.* I 1: 229-233.

Goncalves, C.A., Salbego, C., Wofchuk, S. 1990. Effects of undernutrition during suckling on phosphoryl serine levels in nuclear and synaptosomal proteins from cerebral cortex of rats. *J Nutr.* 120(6): 594-597.

Goodman, M. M. 1988. The history and evolution of maize. *CRC Critical Rev. Plant Sci.* 7(3): 197-220.

Gopalan, C., Rao, K.S.J. 1975. Pellagra and amino acid imbalance. *Vitam. Horm.* 33: 505-528.

Gramsbergen, A., Westerga, J. 1992. Locomotor development in the undernourished rat. *Behav. Brain Res.* 48(1): 57-64

Griffith, R.H., Smith, J.S., Foster, R.A. 1998. Cortical and Subcortical Representational Function in the Morris Water Maze. *Journal of the Behavioral & Neurobehavioral Sciences.* 1(1): 23-38.

Guilarte, T. 1993. Vitamin B6 and cognitive development. *Nutr. Rev.* 51: 193-198.

Gundappa, G., Desiraju, T. 1988. Deviations in brain development of F2 generation on caloric undernutrition and scope of their prevention by rehabilitation: alterations in dendritic spine production and pruning of pyramidal neurons of lower laminae of motor cortex and visual cortex. *Brain Res.* 456(2): 205-23.

Halas, E.S., Sandstead, H.H. 1980. Short-term memory deficits in rats due to early malnutrition: a preliminary report. *Fed. Proc.* 40: 839.

Halas, E.S., Sandstead, H.H. 1981. Short-term memory deficits in adult rats due to marginal zinc deficiency during gestation and lactation. *Fed. Proc.* 41: 838.

Halas, E.S., Sandstead, H.H. 1982. Short-term memory (STM) deficits due to mild zinc deficiency during gestation and lactation a reaffirmation. *Fed. Proc.* 42: 781.

Hansen, J.D.L., Schendel, H.E., Wilkins, A., Brock, J.F. 1960. Nitrogen metabolism in children with kwashiorkor receiving milk and vegetable diets. *Pediatrics.* 25: 258-282.

Hebb, D. 1950. *The Organization of Behavior*. John Wiley and Son. New York.

Hernández, A., Ruíz, S., Perez, H. 1985. Effect of early undernutrition on dynamic properties of axodendritic synapses in the rat prefrontal cortex. *J. Neurobiol.* 16(5): 389-393.

Illescas, R. 1943. La teoría química de la formación del nixtamal. *Rev. Soc. Mex. Hist. Nat.* 4: 129.

Iltis, H. H., Doebley, J. F. 1980. Taxonomy of *Zea* (Gramineae). II. Subspecific categories in the *Zea mays* complex and a generic synopsis. *Amer. J. Bot.* 67(6): 994-1004.

Iltis, H. H. 1983. From teosinte to maize. The catastrophic sexual transmutation. *Science.* 222: 886-894.

Ingle, J., Bietz, D., Hageman, R.H. 1965. Changes in composition during development and maturation of maize seed. *Plant Physiol.* 40: 835-839.

Jellum, M.D., Marion, J.E. 1966. Factors affecting oil content and oil composition of corn (*Zea mays*) grain. *Crop Sci.* 6: 41-42.

Jellum, M.D. 1967. Fatty acid composition of corn (*Zea mays* L.) as influenced by kernel position on ear. *Crop Sci.* 7: 593-595.

Jordan T.C., Cane, S.E., Howells, K.F. 1981. Deficits in spatial memory performance induced by early malnutrition. *Dev. Psychobiol.* 14: 317-325.

Jordan T.C., Howells, K.F., McNaughton, H. 1982. Effects of early undernutrition on hippocampal development and function. *Res. Exp. Med.* 180: 201-207.

Kamp, R.M. 1991. High-sensitivity aminoacid analysis using high performance liquid chromatography and precolumn derivatization. *LC-GC Intl.* 4: 40-46.

Kato Y.T.A. 1984. Chromosome morphology and the origin of maize and its races. *Evol. Biol.* 17: 219-253.

Kato Y.T. A., A. López R. 1990. Chromosome knobs of the perennial teosintes. *Maydica* 35: 125-141.

Katz, H.B., Davies, C.A. 1983. The separate and combined effects of early undernutrition and environmental complexity at different ages on cerebral measures in rats. *Dev. Psychobiol.* 16(1): 47-58.

Kawai, S., Nakamura, H., Matsuo, T. 1989. Effects of early postnatal malnutrition on brainstem auditory evoked potentials in weanling rats. *Biol. Neonate.* 55: 268-274.

Kirksey, A., Wachs, T.D., Srinath, U., Rahmanifar, A., McCabe, G., Galal. 1995. Relation of maternal zinc nutrition to pregnancy outcome and early infant development in an Egyptian village. *Am. J. Clin. Nutr.* 60: 782-792.

Koeppel, O.J., Henderson, L.M. 1955. Niacin-tryptophan deficiency resulting from imbalances in amino acid diets. *J. Nutr.* 55: 23-33.

Kretchmer, N., Beard, J.L., Carlson, S. 1990. The role of nutrition in the development of normal cognition. *American Journal of Clinical Nutrition.* 63(6): 997S-1001S.

Krigman, M.R., Hogan, E.L. 1976. Undernutrition in the developing rat: effect upon myelination. *Brain Res.* 239-255.

Landry, J., Moureaux, T. 1982. Distribution and amino acid composition of protein fractions in opaque-2 maize grain. *Phytochemistry.* 21: 1136S-1186S.

Larocca, J.N., Sato, C., Berti-Mattera, L.N. 1985. Incorporation of (3H)thymidine into DNA and of (35S)sulfate into sulfatides of oligodendroglial cells during development: effect of malnutrition. *Neurochem. Res.* 10(1): 89-98.

Leuba, G., Rabinowicz, T. 1979. Long-term effects of postnatal undernutrition and maternal malnutrition on mouse cerebral cortex. II. Evaluation of dendritic branching and spines in visual region. *Exp. Brain Res.* 37: 299-308.

Lokken, P.M., Halas, E.S., Sandstead, H.H. 1973. Influence of zinc deficiency on behavior. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 144: 680-682.

Lozoff, B. 1990. Has iron deficiency been show to cause altered behavior in infants? *Brain, Behavior, and Iron in the Infant Diet*. Ed. Springer Verlag, Londres Ing. 107-1031.

Mangelsdorf, P. C., and R. G. Reeves. 1939. The origin of Indian corn and its relatives. *Texas Agric. Expt. Sta. Bull.* 574.

Mangelsdorf, P. C. 1974. *Corn. Its Origin, Evolution and Improvement*. Harvard Univ. Press, Cambridge, Mass.

Mangelsdorf, P. C., Roberts, L. M., Rogers, J. S. 1981. The probable origin of annual teosintes. *Bussey Inst. Harvard Univ. Publ.* 10: 1-69.

Martínez, M. 1982. Myelin lipids in the developing cerebrum, cerebellum and brain stem of normal and undernourished children. *J. Neurochem.* 39(6): 1684-1692.

Martorell, R. 1992. Long-term consequences of growth retardation during early childhood. En: Hernández M., Argente J., eds. *Human growth: basic and clinical aspects*. Amsterdam, Elsevier Science Publishers. 143-149.

Mazer, C., Muneyyirci, J., Taheny, K. 1997. Serotonin depletion during synaptogenesis leads to a decreased synaptic density and learning deficits in the adult rat: a possible model of neurodevelopmental disorders with cognitive deficits. *Brain Res.* 760(1-2): 68-73.

McCane, R.A. 1962. The long-term prognosis of severe infantile malnutrition. *Lancet.* ii, 621-671.

Medvedev, D.I., Babichenko, I.I., Eremina, I.Z. 1983. Ultrastructural changes in the neuropile of the sensorimotor cortex during long term protein calorie deficiency (abstract). *Biol. Med.* 95(3): 108-11.

Melcangi, R.C., Celotti, F., Ballabio, M. 1989. Effect of postnatal starvation on the 5 alpha-reductase activity of the brain and of the isolated myelin membranes. *Exp. Clin. Endocrinol.* 94(3): 253-61.

Miller, G.A. 1956. The magical number seven plus or minus two: Some limits on our capacity for processing information. *Psychological Review.* 63: 81-97.

Mora, E.H., Chavez, A., Balam, G., Madrigal, H. 1966. Epidemiología de la pelagra en la zona rural de Yucatán. *Publ. Soc. Mex. Endoc. y Nutr.* 6: 291.

Morgane, P.J., Miller, M., Kemper, T. 1978. The effects of protein malnutrition on the developing nervous system in the rat. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2: 137-230.

Morgane, P.J., Austin-LaFrance, R., Bronzino, J. 1992. Malnutrition and the developing nervous system. En: Isaacson, R., Jensen, K., eds. *The vulnerable brain and environmental risks, Vol. I. Malnutrition and hazard assesment.* New York. Plenum Press. 3-44.

Morgane, P.J., Austin-LaFrance, R., Bronzino, J. 1993. Prenatal Malnutrition and the development of the brain. *Neurosci. Behav. Reviews.* 17: 91-128.

Morris, R. G. M. 1981. Spatial localization does not require the presence of local cues. *Learning and Motivation.* 12: 239-260.

Morris, M. L. 1998. Overview of the world maize economy. En: *Maize Seed Industries in Developing Countries.* M. L. Morris, eds. Lynne Rienner Publishers, Inc. y CIMMYT. 13-34.

Muñoz de Chavez, M., Chavez, A. 1997. El impacto del maíz fortificado con proteínas y micronutrientes en una comunidad rural. *Informe Técnico Anual.* Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán. Tlalpán, D.F.

Nagy, Z. M., Porada, K.J. 1991. Effects of undernutrition by rearing in large litters on acquisition and memory of active-avoidance learning in mice. *Psychonom. Soc.* 29: 351-354.

Neldner, K.H. 1988. Diseases of the skin. Cap. 22 En: Clinical Nutrition. D.M. Paige, ed. The C.V. Mosby Co. St. Louis MI.

Nelson, C., Silverstein, F.S. 1994. Acute disruption of cytochrome oxidase activity in brain in a perinatal rat stroke model. *Pediatr. Res.* 36: 12-19.

Oloyede O.B., Folayan, A.T., Odutuga, A.A. 1992. Effects of low-iron status and deficiency of essential fatty acids on some biochemical constituents of rat brain. *Biochem. Int.* 27: 913-922.

OMS. 1995. El estado físico: uso e interpretación de la antropometría. Informe de un Comité de Expertos de la OMS. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, (OMS, Serie de Informes Técnicos No 854).

Ortega, F.I., Villegas, E., Vasal, S.K. 1986. A comparative study of protein changes in normal and quality protein maize during tortilla making. *Cereal Chem.* 63: 446-451.

Osontokun, B. 1971. Motor nerve conduction in kwashiorkor (protein calorie deficiency) before and after treatment. *African J. Med. Sci.* 2: 109-119.

PAHO (Pan American Health Organization). 1998. Enriquecimiento de alimentos con micronutrientes – Fundamentos de la garantía de calidad. Página electrónica: <http://www.paho.org>.

Patterson, J.I., Brown, R.R., Linkswiler, H., Harper, A.E. 1980. Excretion of tryptophan- niacin metabolites by young men: effects of tryptophan, leucine and vitamin B6 intakes. *Am. J. Clin. Nutr.* 33: 2157-2167.

Pedrosa, ML, Morales-Santos, T. 1987. Neuronal protein biosynthesis by neonatally malnourished and nutritionally recovered rats. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 20(3-4): 331-338.

Pelletier, D.L., Habicht, J.P. 1993. Epidemiologic evidence for a potentiating effect of malnutrition on child mortality. *American Journal of Public Health.* 83: 1130–1133.

- Pelletier, D.L. 1995. The effects of malnutrition on child mortality in developing countries. *Bulletin of the World Health Organization*. 73 (4): 443-448.
- Pollit, E., Gormwn, K.S., Engle, P.L., Martorell, R., Rivera, J. 1993. Early supplementary feeding and cognition. *Monogr. Soc. Res. Child Develop.* 58(7): 1-99.
- Pradilla, A.G., Harpstead, D.D., Sarria, D., Linares, F.A., Francis, C.A. 1975. Quality protein maize in human nutrition. In high-quality protein maize. Dowden, Hutchinson and Ross, Inc., Stroudsburg, PA. 27-37.
- Quaker Oats Company. 1898. The homes that never serve oatmeal. Quarter Oats Advertisement. Chicago.
- Quirk, G.J., Mejia, W.R., Hesse, H., Su, H. 1995. Early malnutrition followed by nutritional restoration lowers the conduction velocity and excitability of the corticospinal tract. *Brain Res.* 670: 227-282.
- Rahmannifar, A., Kirksey, A., Wachs, T.D. 1993. Diet during lactation associated with infant behavior and caregiver infant interaction in a semirural Egyptian village. *J. Nutr.* 123: 164-175.
-
- Ranhotra, G.S. 1985. Nutritional profile of corn and flour tortillas. *Cereal Foods World*. 30: 703-704.
- Ranhotra, G.S., Gelroth, J.A., and Leinen, S.D. 1999. Increase in bone calcification in young rats fed breads highly fortified with calcium. *Cereal Chem.* 76(3): 325-327.
- Randolph, L. F. 1955. History and origin of corn. II. Cytogenetic aspects of the origin and evolutionary history of corn. En: *Corn and Corn Improvement*. Sprague, G. F., ed. Academic Press, New York. 16- 61.
- Randolph, L. F. 1959. The origin of maize. *Indian J. Genet. Plant Breed.* 19: 1- 12.

- Rasmussen, K.M. 1988. Effects of under and overnutrition on lactation on laboratory rats. *J. Nutr.* 128: 390S-393S.
- Rathbun, W.E., Druse, M.J. 1985. Maternal undernutrition during lactation: effect on amino acids in brain regions of offspring. *J. Neurochem.* 45(6): 1802-1808.
- Reddy, TS, Horrocks, LA. 1986. Effects of neonatal undernutrition of rats in the synthesis of phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine from gray matter and white matter. *Int. J. Dev. Neurosci.* 4(1): 89-95.
- Reinhold, J.G., García J.S. 1979. Fibre of the maize tortilla. *Am. J. Clin. Nutr.* 32: 1326- 1329.
- Reinhold, J.G., García, P.M., Garzón, P. 1984. Solubility of ferrous and ferric iron as affected by constituents of the maize tortilla. *Nutr. Rep. Int.* 30: 603-615.
- Reyes, M.R., Valdecanas, C.M., Reyes, O.L. 1990. The effects of malnutrition on the motor, perceptual and cognitive functions of Filipino children. *Int. Disabil. Stud.* 12(4): 131-136.
- Rosso, P., Hormazabal, J., Winick, M. 1970. Changes in brain weight, cholesterol, phospholipids and DNA content in marasmic children. *Am. J. Clin. Nutr.* 23: 1275-1279.
- Royland, J., Klinkhachorn, P., Konat, G., Wiggins, R.C. 1992. How much undernourishment is required to retard brain myelin development. *Neurochem. Int.* 21: 269-274.
- Rudy, J.W., Castro, C.A. 1990. Undernutrition during the brain growth period of the rat significantly delays the development of processes mediating Pavlovian trace conditioning. *Behav. Neural. Biol.* 53(3): 307-320.
- Salas, M. 1972. Effects of early malnutrition on the development of swimming ability in the rat. *Physiol. Behav.* 8: 119-172.
- Salas, M., Diaz, S., Nieto, A. 1974. Effects of neonatal food deprivation on cortical spines and dendritic development of the rat. *Brain Res.* 73: 139-144.

- Sakanashi, T.M., Brigham, H.E., Rasmussen, K.M. 1987. Effect of the dietary restriction during lactation on cardiac output, organ blood flow and organ weights of rats. *J. Nutr.* 117(8): 1469-1474.
- Salbego, C., Souza, D.O. 1986. Effects of undernutrition during suckling on phosphoryl-serine levels in brain nuclear proteins of adult rats. *J. Nutr.* 116(11): 2303-2310.
- Saldaña, G., Brown, H.E. 1984. Nutritional composition of corn and flour tortillas. *J. Food Sci.* 49: 1202-1203.
- Sanderson, J., Wall, J.S., Donaldson, G.L., Cavins, J.F. 1978. Effect of alkaline processing of corn on its amino acids. *Cereal Chem.* 55: 204-213.
- Schlesinger, L., Arevalo, M., Simon, V. 1995. Immune depression induced by protein calorie malnutrition can be suppressed by lesioning central noradreline systems. *J. Neuroimmunol.* 57(1-2): 1-7.
- Schmidt, G., Thannhauser, S.J. 1945. A method for the determination of desoxyribonucleic acid, ribonucleic acid, and phosphoproteins in animal tissues. *J. Biol. Chem.* 161: 83-89.
- Schonheit, B., Haensel, P. 1988. Neurohistologic studies of cortical pyramidal neurons in the rat following rehabilitation of early postnatal malnutrition (abstract). *J. Hirnforsch.* 29(6): 599-615.
- Schrimshaw N.S., Altschul, A.M. 1999. *Amino acid fortification of protein foods.* Cambridge, Mass. MIT Press. 184-204.
- Serna Saldivar, S.O., Knabe, D.A., Rooney, L.W., Tanksley, T.D. 1987. Effect of lime cooking on energy and protein digestibility of maize and sorghum. *Cereal Chem.* 64(4): 247-252.
- Serna-Saldivar, S.O., Knabe, D.A., Rooney, L.W., Tanksley, T.D. Jr., Sproule, A.M. 1988a. Nutritional value of sorghum and maize tortillas. *J. Cereal. Sci.* 7: 83-94.

Serna Saldivar, S.O., Canett, R., Vargas, J., Gonzalez M., Bedolla, S. 1988b. Effect of soybean and sesame addition on the nutritional value of maize and decorticated sorghum tortillas produced by extrusion cooking. *Cereal Chem.* 65(1): 44-48.

Serna-Saldivar, S.O., Gomez, M.H., Rooney, L.W. 1990. Technology, Chemistry, and Nutritional Value of Alkaline- Cooked Corn Products. Cap. 4. En: *Advances in Cereal Sci. & Technology*. Vol. X., Y. Pomeranz, ed. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN.

Serna-Saldivar, S.O., Rooney, L.W., Greene, L.W. 1991. Effect of lime treatment on the availability of calcium in diets of tortillas and beans: Rat growth and metabolic studies. *Cereal Chem.* 68: 565-570.

Serna-Saldivar, S.O., Rooney, L.W., Greene, L.W. 1992. Effects of lime treatment on the bioavailability of calcium in diets of tortillas and beans: Bone and plasma composition in rats. *Cereal Chem.* 69: 78-81.

Serna Saldivar, S.O. 1996a. Comparación del Valor Nutritivo de Tortillas de Maíz Regulares y Fortificadas y Enriquecidas con Harina de Soya, Hierro y Vitaminas. Reporte Interno para el Grupo MASECA. Monterrey, N.L., México.

Serna-Saldivar, S.O. 1996b. Química, Almacenamiento e Industrialización de los Cereales. AGT Editor, S.A. México, D.F., México.

Serna Saldivar, S.O. 1997. The Fortification and Enrichment of Corn Tortillas: An Industrial Approach. Cap. 3. En: *Fortification of Corn Masa with Iron and/or Other Nutrients - A Literature and Industry Experience Review*. SUSTAIN, US Agency for International Development, Washington, D.C.

Serna-Saldivar, S.O. 1998. Evaluación de la Calidad Proteica Nutritional de dos Harinas Nixtamalizadas (Regular y Fortificada) Mediante Bioensayos con Ratas de Laboratorio. Reporte de asesoría. Grupo Industrial Maseca, S.A. Monterrey, N.L., Mexico.

Shen, Y., Specht, S.M., Desaintghislain, I., Li, R. 1994. The hippocampus: A biological model for studying learning and memory. *Prog. Neurobiol.* 44: 485-496.

Sima, A., Sourander, P. 1976. The effects of pre- and postnatal undernutrition on the calibre growth of central motor fibers. *Acta Neuropathol.* 34: 105-14.

Sima, A., Sourander, P. 1978. The effects of pre- and postnatal undernutrition on axonal growth and myelination of central motor fibers. *Acta Neuropathol.* 42: 15-18.

Singh, N., Kumar, A, Ghai, O. 1976. Conduction velocities of motor nerves of children suffering from protein calorie malnutrition and marasmus. *Electromyography Clin. Neurophys.* 16: 382-392.

Smart, J.L., Dobbing, J. 1971. Vulnerability of the developing brain. VI. Relative effects of fetal and early postnatal undernutrition on reflex ontogeny and development of behavior in the rat. *Brain Res.* 33:303-314.

Smart, J.L., Dobbing, J., Adlard B.F., Lynch, A., Sands, J. 1973. Vulnerability of developing brain: relative effects of growth restriction during the fetal and suckling periods on behalf of brain composition of adult rats. *J. Nutr.* 103: 1327-1338.

Smart, J.L., Tricklebank, M.D., Adlard, B.P.F. 1976. Nutritionally small for date rats: Their subsequent growth, regional brain 5-hydroxytryptamine turnover and behavior. *Pediatr. Res.* 10: 807-11.

Solan, H.A., Mozlin, R. 1997. Biosocial consequences of poverty: associated visual problems. *Optom. Vis. Sci.* 74(4): 185-189.

Sorokin PA. 1975. *Hunger as a factor in human affairs.* University of Florida Press. Gainesville, FL.

Spargo J. 1906. *The bitter cry of the children.* McMillan. New York, NY. 54-58.

Sproule, A.M., Serna-Saldivar, S.O., Bockholt, A.J., Rooney, L.W., Knabe, D.A. 1988. Nutritional evaluation of tortillas and tortilla chips from Quality Protein Maize. *Cereal Foods World*. 33(2): 233-236.

Squibb, R.L., Bressani, R. y Scrimshaw, N.S. 1957. Nutritive value of Central American corns. V. Carotene content and vitamin A activity of three Guatemalan yellow corns. *Food Res.* 22: 303-307.

Stylianopoulos, C., Serna-Saldivar, S.O., Arteaga, G. 2002. Effects of fortification and enrichment of maize tortillas on growth and brain development of rats throughout two generations. *Cereal Chem.* 79(1): 85-91.

Sullivan J.S., Knabe D.A., Bockholt A.J., Gregg E.J. 1989. Nutritional value of quality protein maize and food corn for starter and growth pigs. *J. Anim. Sci.* 67: 1285-1292.

Sustain. 1997. Fortification of corn masa flour with iron and/or other nutrients. A literature and industry experience review. US Agency for International Development: Washington, D.C.

Taleb, N.B., Remacle, C., Hoet, J.J., Reusens, B. 1999. A low-protein isocaloric diet during gestation affects brain development and alters permanently cerebral cortex blood vessels in rat offspring. *J. Nutr.* 129: 1613-1619.

Taner, S.K., Misra, S., Jaiswal, S. 1997. Central motor conduction time in malnourished children. *Arch. Dis. Child.* 77(4): 323-325.

Tomkins, A. W. 1989. Malnutrition and infection: a review. Geneva, United Nations Administrative Committee on Coordination/Subcommittee on Nutrition, (ACC/SCN State-of-the-art Series, Nutrition Policy Discussion Paper No. 5).

Tonkiss, J., Schultz, P., Galler, J.R. 1994. An analysis of spatial navigator in prenatally malnourished rats. *Physiol. Behav.* 55: 217-224.

Timothy, D. H., Levings C. S., Pring, D. R., Conde, M. F., Kermicle J. L. 1979. Organelle DNA variation and systematic relationships in the genus *Zea*: Teosinte. Proc. Natl. Acad. Sci. 76(9): 4220-4224.

UNICEF (United Nations Children's Fund). 1999. Statistics. Página electrónica: <http://www.unicef.org>.

USDA. 1982. Handbook #8. Composition of Food. USDA.

Van Kranen-Mastenbroek, V.H., Folmer, K.B., Kingma, H. 1993. Postural behavior of term SGA and AGA newborn infants. Dev. Med. Child Neurol. 35(6): 516-24.

Walter, T. 1993. Impact of iron deficiency on cognition in infancy and childhood. Eur. J. Clin. Nutr. 47: 307-316.

Warren, M.A., Bedi, K.S. 1984. A quantitative assessment of the development of synapsis and neurons in the visual cortex of control and undernourished rats. J. Comp. Neurol. 227: 104-108.

Warren, M.A., Bedi, K.S. 1988. The effects of a lengthy period of undernutrition from birth and subsequent nutritional rehabilitation on the granule-to-Purkinje cell ratio in the rat cerebellum. J. Anat. 159: 147-153.

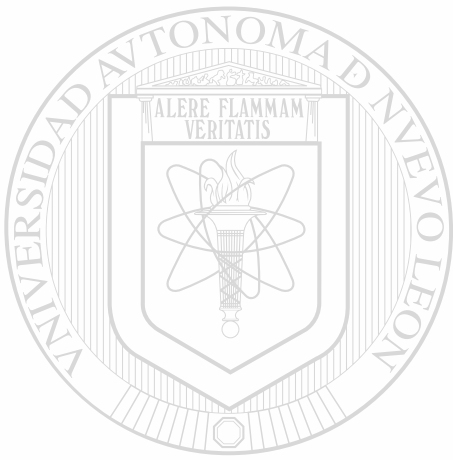
Watson, S.A. 1962. The yellow carotenoid pigments of corn. En: W. Hechendom y J.J. Sutherland, eds. Proc. Corn. Res. Conf. 17th.

Watson, S.A. 1987. Structure and composition. En: Corn: chemistry and technology. Watson S.A., Ramstad, P.E., eds. Am. Assoc. Cereal Chem. St Paul, Minn.

Weatherwax, P. 1955. History and origin of corn. I. Early history of corn and theories as to its origin. En: Corn and Corn Improvement. Sprague, G. F., ed. Academic Press, New York. 1-16.

- Wetzel, W., Ruthrich, H.L., Matthies, H. 1979. Memory impairment in adult rats after postnatal undernutrition. *Behav. Neural. Biol.* 25: 157-165.
- Wiggins, R.C. 1982. Myelin development and nutritional insufficiency. *Brain Research Reviews.* 4: 151-175.
- Winick, M., Nobel, A. 1966. Cellular response in rats during maturation at various ages. *J. Nutr.* 89: 300-306.
- Winick, M. 1969. Food, time and cellular growth of the brain. *J. Med.* 69: 302-304.
- Winick, M., Rosso, P., Waterlow, J. 1970. Cellular growth of cerebrum, cerebellum and brainstem in normal and marasmic children. *Exp. Neurology.* 26: 393-400.
- Wolf, M.J., Buzan, C.L., MacMasters, M.M., Rist, C.E. 1952. Structure of the mature corn kernel. *Cereal Chem.* 29: 321-382.
- Yakovlev, P.J., Lecours, A.R. 1967. The myelogenetic cycles of regional maturation of the brain in early life. En: *Regional development of the brain in early life.* Minskowski, A., ed. Oxford, Ing. Blackwell. 3-10.
- Yeh, Y.Y. 1988. Maternal dietary restriction causes myelin and lipid deficits in the brain of offspring. *J. Neurosci. Res.* 19: 57-363.
- Yusuf, H.K., Haque, Z, Mozaffar, Z. 1981. Effect of malnutrition and subsequent rehabilitation on the development of mouse brain myelin. *J. Neurochem.* 36(3): 924-30.
- Zamenhof, S., Van Marthens, E., Margolis, F. 1968. DNA (cell number) and protein in neonatal brain: alteration by maternal dietary protein restriction. *Science.* 160: 322-323.
- Zemenhof, S., Van Marthens, E., Gaele, L. 1971. DNA (cell number) and protein in neonatal rat brain: alteration by timing of maternal dietary protein restriction. *J. Nutr.* 101: 1265-1270.
- Zamenhof, S. 1985. Malnutrition and brain development. En: *Handbook of Neurochemistry, Vol. 9.* Lajtha, A., ed. New York. Plenum Pub. Co. 151-72.

Zubirán, S., Chavez, A. 1963. Algunos Datos Sobre la Situación Nutricional de México. Bol. Of.San. Pan. 54:101.

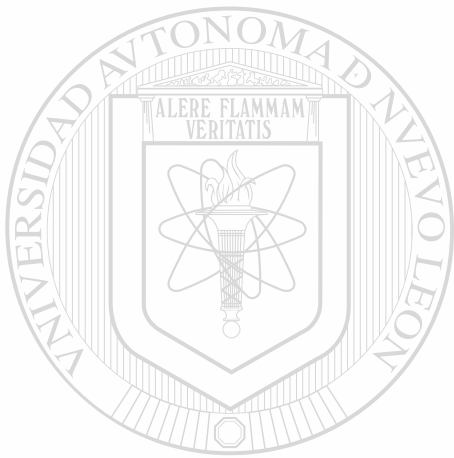


UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



ANEXO 1

UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Dr. S.O. Serna-Saldivar
7305 San Dario Avenue
Suite G PMB 4-914
Laredo TX 78045
U.S.A.

Date: 18 April 2003

Tel.no.(direct): (0)78 6576 158
E-mail: wouter.vanderveelde@wkap.nl

Our ref.: QUAL3915 J5AUT1 1015278
Effects of soybean fortification on protein quality of
tortilla based diets produced from regular and quality
protein maize
AMAYA-GUERRA/ALANIS-GURMAN/SALVIDAR

Dear Dr. Serna-Saldivar,

I have received the reports from our advisors on your
manuscript, submitted to the journal
Plant Foods for Human Nutrition

Based on the advice received, the Editor
Dr. O. Paredas-Lopez has decided that your paper
can be accepted, providing that all corrections as
suggested by the referees are incorporated.

I am enclosing herewith a copy of the relevant remarks for
your perusal together with a copy of the manuscript, which
should be returned with the revised version. You are
requested to submit your revised paper in triplicate,
together with a listed response to the reviewers' comments
in duplicate.

Please send us originals of any figures to be printed in
your manuscript if you have not yet done so, as these will
be necessary for production purposes.

I would be grateful if you could let me know whether you are
prepared to make the suggested amendments and, if so, when I
may expect to receive the revised version.

Please remember to quote the manuscript number
QUAL3915 at all times. Thank you. I look forward to hearing
from you again.

Sincerely yours,
Kluwer Academic Publishers


Wouter van der Velde
Editorial Office QUAL

QUAL 3915

NUTRITIONAL VALUE OF SOYBEAN FORTIFIED QPM TORTILLAS

ARTICLE TYPE: Manuscript

**EFFECTS OF SOYBEAN FORTIFICATION ON PROTEIN QUALITY OF
TORTILLA BASED DIETS PRODUCED FROM REGULAR AND QUALITY
PROTEIN MAIZE**

**Carlos A. Amaya-Guerra¹, Maria Guadalupe Alanis-Guzman² and Sergio O. Serna
Saldívar³**

¹Graduate Student, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Av. Pedro de Alba s/n, Cd. Universitaria, San Nicolas de los Garza, Nuevo León, México.

²Professor, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Av. Pedro de Alba s/n, Cd. Universitaria, San Nicolas de los Garza, Nuevo León, México.

³Corresponding author:

Professor and Head of the Department Food Science and Technology, Instituto

Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey-Campus Monterrey.

Av. Eugenio Garza Sada 2501 Sur, C.P. 64849 Monterrey, N.L. México.

Tel. (52) 81-83284262; Fax. (52) 81-83284322. Email: sserna@itesm.mx

ABSTRACT

The physiological development of laboratory rats fed with a typical indigenous tortilla diet was studied for two generations. The experiment compared casein control diet and 5 different types of diets: 1) a diet of tortillas obtained from fresh masa (FM); 2) regular tortillas produced from enriched dry masa flour containing vitamins B₁, B₂, niacin, folic acid and the microminerals iron and zinc (REDMF); 3) tortillas produced from enriched dry masa flour fortified with 6% defatted soybean meal (FEDMF); 4) tortillas produced from enriched quality protein maize flour (EQPM); 5) and, tortillas produced from enriched quality protein maize flour fortified with 3% defatted soybean meal (FEQPM). The growth of rats fed the FEDMF and FEQPM diets was significantly higher ($P < 0.05$) in both generations than their counterparts fed the EQPM, REDMF or FM diets. Animals fed QPM tortilla had the highest protein digestibility, but the FEQPM and FEDMF diets had the highest biological value (BV), net protein utilization (NPU), and protein digestibility corrected EAA scores (PDCEAAS). The difference among treatments was more evident in the second-generation rats. The pregnancy rate, number of newborns/litter, litter weight, and newborn survival rate was also higher for rats fed FEDMF, EQPM and FEQPM diets than their counterparts fed REDMF and FM.

KEY WORDS: Corn tortillas, Fortification and enrichment, Quality protein maize, Protein quality and rat growth.

Protein malnutrition is known to inhibit growth, and has a significant effect on the time required to reach full adult size (Cameron et al. [1], Edozien et al. [2], Yayha et al. [3]). Perinatal malnutrition and low birth weight are important risk factors predisposing individuals to metabolic problems in later stages of their life cycle (Barker et al. [4], Prasad [5]). Rat studies demonstrated that females fed 75% of the recommended energy requirement before conception and throughout the reproductive period were able to buffer the negative effects of malnutrition and had normal lactation; however, others fed 50% of the energy requirement had serious disorders during gestation and lactation (Young and Rasmussen [6]).

Mexico has the highest world *per capita* consumption of maize (*Zea mays* L) and the main product made from this cereal is the tortilla. Tortilla *per capita* consumption in some groups is higher than 120 kg per year, which is equivalent to 328 g/day. In rural zones, maize provides more than 70% of the calories and 50% of the daily protein intake (Serna Saldívar et al. [7]). The lower the socioeconomic status the greater the dependence on tortillas. Unfortunately, tortillas are not a perfect food because they lack of two essential amino acids: lysine and tryptophan, as well as adequate levels of iron, zinc and vitamins A, D, E and B₁₂. That is the reason why tortillas are ideally suited for nutritional enrichment and protein fortification (Serna et al. [8], Figueroa et al. [9], Stylianopoulos et al. [10]).

In Mexico, the dry masa flour industry started to enrich flours with 5 mg/kg B₁, 3.0 mg/kg B₂, 35 mg/kg niacin, 0.5 mg/kg folic acid, 30 mg/kg iron and 20 mg/kg zinc in 1998. Unfortunately, this industry currently processes only 22.8% of the total tortillas consumed. 36.7% of the tortillas produced are made from fresh masa and 40.5% are still manufactured using the traditional process in rural zones (Figueroa et al. [9]). Enrichment and fortification of fresh masa is difficult because the enrichment premix and/or flours are

difficult to incorporate and distribute homogeneously throughout the dough or masa at the concentration desired. In addition, most tortilla factories are small-scale enterprises with little technical development.

Quality protein maize (QPM) can be an important and easy way to upgrade the protein quality of tortillas produced from fresh masa in small tortilla factories or by the traditional process in rural areas. The nutritional and biological value of QPM has been investigated (Bressani et al. [11]; Mertz et al. [12]; Sproule et al. [13]; Serna Saldivar et al. [14]) since the discovery of the opaque 2 corn. QPM surpasses ordinary corn in biological value and net protein utilization (Eggum et al. [15]). Bressani [16] has suggested that QPM is a practical solution to prevent child malnutrition.

The objective of this research was to compare the physiological development of two generations of laboratory rats fed enriched and soybean fortified tortillas produced from regular maize and QPM.

MATERIALS AND METHODS

Diet Preparation

Tortillas were produced from dry masa flours (regular and QPM) using conventional procedures. The flour was hydrated with 1.2 L water to form a dough which was formed into disks and baked in a three tier gas-fired oven. Tortillas were baked for approximately 50 sec at an average temperature of 290°C. The fresh masa tortillas were purchased from a commercial tortilla factory. Tortillas were incorporated into a typical Mexican Otomi Indian diet as described by Stylianopoulos et al. [10]. The experimental diets contained 73.6% tortillas. During the growth periods the diets were administered as powder, and during mating, pregnancy and lactation as pellets. The pellets were manufactured by

mixing 10 g bentonite and 150 mL water per kg of powdered diet and the resulting mixture was extruded through a 2 cm diameter die using a meat stuffer (Vemag, model 500, type 128/90, Verden Germany). The extruded material was manually cut into 3 cm length pieces and then dried at 50-60°C for 8 hours in a convection oven.

The AIN76 semipurified casein control diet (Bieri [17]) was formulated with 20.0% casein (AIN Purified High Nitrogen), 0.3% DL-Methionine, 5% cellulose (Alphacel, ICN Biomedicals), 1% vitamin mix (AIN 76, ICN Biomedicals), 3.5% mineral mix (AIN 76, ICN Biomedicals), 50% corn starch, 15.2% sucrose, and 5% vegetable oil with 0.005% BHT.

Treatments

Six different diets were tested, five consisted of experimental diets based on tortillas made from: fresh masa (FM), enriched regular dry masa flour (REDMF), enriched dry masa flour fortified with 6% defatted soybean meal (FEDMF), enriched QPM flour (EQPM) and 3% defatted soybean fortified/enriched QPM flour (FEQPM). The

commercial defatted soybean meal (Toasted Nutrisoy Flour, Archer Daniels Midland Company, Decatur, IL, USA) contained 53% protein (db). The enriched flour in each case contained 5 mg/kg B₁, 3.0 mg/kg B₂, 35 mg/kg niacin, 0.5 mg/kg folic acid, 30 mg/kg iron and 20 mg/kg zinc. The other treatment consisted of a control group fed a balanced purified casein based diet (Bieri [17]) that contained all necessary nutrients for optimum rat growth.

Chemical Composition

The proximate composition of the formulated diets was determined following AOAC [18] procedures. Free nitrogen extract was determined by the formula: $NFE_{db} (\%) = 100 - \% \text{ protein} - \% \text{ ether extract} - \% \text{ ash} - \% \text{ crude fiber}$. Digestible energy was calculated based

on the amounts of NFE, protein and ether extract, using the following equation: $DE = (\% \text{ NFE} * 4\text{kcal/g}) + (\% \text{ protein} * 4\text{kcal/g}) + (\% \text{ ether extract} * 9\text{kcal/g})$.

Amino Acid Composition

Samples were hydrolyzed as follows: first, air was removed exhaustively from the system by a repeated freeze-thaw technique, and then the hydrolysis carried out in 6N HCl at 110°C for 24 hr. Amino acids were determined with an AminoQuant system consisting of an HP 1090 liquid chromatograph with an HP Chemstation (Hewlett Packard, Toulouse, France) using both o-phthalaldehyde and 9-flourenylmethyl chloroformate pre-column derivatization methods for spectrophotometric quantification (Kamp, [19]). Analyses were performed twice. Amino acid data was used to calculate essential amino acid (EAA) scores by dividing the quantity of the limiting EAA by the corresponding requirement for a 2-year-old infant (FAO/WHO [20]).

Rat Bioassays

Fifty-four Wistar female weanling rats (25 days old) with an average initial body weight of 48.4 g were grouped by initial weight and randomly assigned to 6 blocks. During growth, rats were housed for 28 days in individual stainless steel cages at controlled environmental conditions (20-22°C with alternating periods of 12 hours light and darkness). Food and water were provided *ad libitum*. Weight gains and protein food conversions were calculated after 14 and 28 days.

After 2 months feeding, three females and one male from to the same treatment were housed in acrylic cages for nine days and then the male was replaced by another adult male for 9 more days for mating. Pregnant rats were individually housed in maternal acrylic cages. The number of live births and the total weight of the litters were registered after

birth. The newborn rats were allowed to lactate for 28 days. At the end of lactation, two rats per litter (females) with the average litter weight were fed for 28 more days to determine the growth of the second-generation weaning rats.

Nitrogen Retention Study

Six female Wistar rats per treatment were individually housed in metabolic cages for 10 days. After a 14-day diet and cage adaptation period total amounts of feces and urine were collected daily for each animal for 10 consecutive days. Feces and urine were pooled and stored in a freezer. Urinary nitrogen losses were prevented by adding 1 ml of HCl (1:1) to the collection containers daily. The urine was filtered through Whatman No. 1 paper, diluted to 100 ml with distilled water and assayed for nitrogen. Feces were dried in a convection oven set at 60°C, cleaned, weighed, ground with a mortar and pestle and analyzed for moisture and nitrogen. Apparent dry matter and protein digestibilities were calculated by determining the moisture and protein content of the feed and feces. Urinary nitrogen analysis served to calculate the apparent biological value ($BV = N \text{ retained}/N$

absorbed) and apparent net protein utilization ($NPU = BV \times \text{apparent protein digestibility}$).

Protein digestibility corrected EAA scores (PDCEAAS) were obtained by multiplying the EAA score by the corresponding apparent protein digestibility: $PDCEAAS = (\text{EAA Score})$

$(\text{Apparent Protein Digestibility})/100$.

Statistical Analyses

Data was analyzed using a randomized complete block design using variance analysis procedures. Duncan's tests were applied to determine statistical differences among treatments ($P < 0.05$). Pearson bivariate coefficients with a 2-tailed test of significance ($P < 0.05$ and $P < 0.01$) were determined to estimate the correlations between PDCEAAS,

BV, PDCEAAS, and NPU. Data was analyzed using the SPSS Statistical Software Package.

RESULTS AND DISCUSSION

Diet Composition

The protein content of the FEDMF and FEQPM diets was around 1% higher than that of the other diets (Table I). However, the essential amino acid scores (EAAS) of these diets were about 23 units higher when compared with the regular tortilla based diets and 10 units higher than the EQPM diet (Table I). This clearly shows the beneficial effect of using QPM to make tortillas, as well as the effect of soybean fortification in improving the EAAS. In human nutrition, especially during the early stages of life, high amounts of essential amino acids are important than high protein content. The digestible energy content of the different diets was similar (Table I). The FM diet had a slightly higher fiber content than the rest of the experimental diets probably due to the greater retention of the fiber rich pericarp tissue after nixtamalization. Stylianopoulos et al. [10] also found higher levels of fiber in tortillas made from fresh masa.

As expected the FM and REDMF tortilla diets contained lower amounts of lysine, tryptophan, and EAAS than the EQPM, FEDMF and FEQPM tortilla diets. Similar results were observed by Serna Saldivar et al. [7,8] and Stylianopoulos et al. [10].

Growth study and reproductive performance

Rats fed the FEQPM diet (Table II) had a higher protein conversion efficiency (2.13 g weight gain/g of protein consumed) than their counterparts fed the EQPM or FEDMF diets (1.84 and 1.89 g weight gain/g of protein consumed, respectively). The worst protein

efficiency was observed in animals fed regular tortilla diets made from FM or REDMF (0.98 and 1.41 g weight gain/g of protein consumed, respectively). This confirms that EAA scores were closely related to protein conversion efficiencies. Rats fed the casein control diet had the best growth performance ($P < 0.05$) confirming the results of other researchers (Serna Saldivar et al. [7,8, 21], Sproule et al. [13], Stylianopoulos et al. [10]). Rats fed regular tortillas diets lost most of their hair and had severe dermatitis especially after the second month of the study. It is well known that the lack of niacin produces pellagra and dermatitis (Neldner [22]). Interestingly, animals fed QPM diets did not have any of these symptoms probably due to the higher levels of tryptophan that is converted to niacin (Koeppel [23]). QPM diets were slightly more protein digestible than the other experimental diets (Table V). This does not agree with Eggum et al. [15] who mentioned that the true digestibility of QPM was slightly lower than that of regular corn.

Rats fed FEDMF (69.99% BV, 58.34% NPU) and FEQPM (69.59% BV, 59.16% NPU) diets have the best BV and NPU values followed by their counterparts fed the EQPM diet (64.23% BV, 55.89% NPU). Animals fed REDMF (55.64% BV, 47.75% NPU) and FM diets (39.35% BV, 33.83 % NPU) had the lowest nitrogen retention (Table III).

Nitrogen retention values were closely correlated to PDCEAAS ($BV=0.838$, $P < 0.05$ and $NPU=0.928$, $P < 0.01$). Animals fed QPM products had better weight gains and retained dietary nitrogen more efficiently than did rats fed regular tortilla diets (Sproule et al. [13], Sullivan et al. [24]). Experiments performed by Bressani et al. [25], Serna Saldivar et al. [7] and Stylianopoulos et al. [10] clearly demonstrated that the addition of soybean meal to tortillas did not affect protein digestibility and clearly improved nitrogen retention and growth.

During the second-generation growth study (Table II) the same tendencies were observed but differences between low quality protein and high quality protein diets were exacerbated. Growth rates for rats fed FEQPM and FEDMF diets were 1.96 and 1.75 g weight gain/g protein intake respectively, at least 3 times higher than for the animals fed FM and REDMF diets (0.49 and 0.63 g weight gain/g protein intake, respectively). Stylianopoulos et al. [10] also observed higher growth rates in second generation rats fed soybean fortified tortillas.

All the females fed FEDMF, EQPM, FEQPM and control diets became pregnant 18 days after mating, while their counterparts fed REDMF and FM tortilla diets had 77.7 and 37.5% pregnancy rates, respectively (Table IV). The lower pregnancy rate was associated with the lower body weight produced by diets deficient in EAA, vitamins and minerals. The lack of good quality protein, iron and folic acid has been associated with reproduction failure (Alexander et al. [26]). In addition, females fed FEDMF, EQPM, FEQPM and control diets had between 8 to 11 newborns/litter, in contrast with rats fed REDMF and FM diets that only had an average of 3 to 6 newborns/litter. The birth weight was similar for all the treatments, but the weaning weight and survival rate were higher for the control, EQPM and FEQPM. Alexander et al. [26], Friggers et al. [27], Rasmussen [28], and Sakanashi et al. [29] also found a close relationship between protein quality and offspring performance. Maternal protein and calorie malnutrition negatively affected reproduction performance and litter weight. These studies showed that malnourished animals produce less milk, thus affecting the survival rate and litter weight gains.

CONCLUSIONS

Utilization of QPM instead of regular maize improved the nutritional value of tortillas and rat performance over two generations. The effect was more evident in second generation rats. Animals had better weight gains, adult body weights, reproductive performance, and survival rate. Soybean fortified tortillas made from regular maize and QPM had better protein quality and produced better animal performance than unfortified tortillas. The performance of rats fed the FEQPM diet that contained 3% soybean meal was similar to the FEDMF diet that contained 6% soybean meal; therefore the utilization of QPM makes it possible to save half of the soybean flour without sacrificing nutritional value.

Fortification of QPM or regular corn with 3 or 6% defatted soybean flour did not significantly affect dry matter, energy and protein digestibilities but greatly improved nitrogen retention values due to the complementary effect of the soybean protein and the maize protein. Moreover, females fed the high quality protein diets had a higher pregnancy rate, number of newborns/litter, and survival rate.

This study clearly shows the beneficial effects of QPM, soybean fortification and enrichment of tortillas with iron, zinc, thiamine, riboflavin, niacin and folic acid. The utilization of QPM and/or soybean fortified tortillas is highly recommended because this staple food provides the most deficient nutrients that most low income and rural people that inhabits in Mexico and Central America lack.

REFERENCES

1. Cameron GN, Eshelman BD (1996) Growth and reproduction of hispid cotton rats in response to naturally occurring levels of dietary protein. *J. Mammal.* 77: 220-231.
2. Edozien JC, Switzer BR (1978) Influence of diet on growth in the rat. *J. Nutr.* 108: 282-290.
3. Yayha ZAH, Millward DJ (1994) Dietary protein and the regulation of long bone and muscle growth in the rat. *Clin. Sci. (Lond.)* 87: 213-224.
4. Barker DJP, Gluckman PD, Godfrey KM, Harding JE, Owen JA, Robinson JS (1993) Review article. Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life. *Lancet* 341: 938-941.
5. Prasard VVTS (1991) Maternal protein deficiency in rat: effects on central nervous system gangliosides and their catabolizing enzymes in the offspring. *Lipids* 26: 553-556.
6. Young CM, Rasmussen KM (1985) Effects of varying degrees of chronic dietary restriction in rat dams on reproductive and lactational performance and body composition in dams and their pups. *Am. J. Clin. Nutr.* 41:979-987.
7. Serna-Saldivar SO, Knabe DA, Rooney LW, Tanksley TD, Sproule AM (1988a) Nutritional value of sorghum and maize tortillas. *J. Cereal. Sci.* 7:83-94.
8. Serna-Saldivar SO, Canett R, Vargas J, Gonzalez M, Bedolla S (1988b) Effect of soybean and sesame addition on the nutritional value of maize and decorticated sorghum tortillas produced by extrusion cooking. *Cereal Chem.* 65:44-48.

9. Figueroa JDC, González J, Arámbula VG, Morales SE (1997) Tecnologías Ecológicas para la producción de tortilla. *Avance y Perspectiva*. 16:363-374.

10. Stylianopoulos C, Serna-Saldivar SO, Arteaga G (2002) Effects of fortification and enrichment of maize tortillas on growth and brain development of rats throughout two generations. *Cereal Chem*. 79:85-91.

11. Bressani R, Elias LG, Gomez-Brenes R A (1968) Protein quality of opaque-2 corn: Evaluation in rats. *J. Nutr*. 97: 173-180.

12. Mertz ET, Veron OA, Bates LS Nelson OE (1965) Growth of rats fed on opaque-2 maize. *Science* 148: 1741-1742.

13. Sproule AM, Saldivar SO, Bockholt AJ, Rooney LW, Knabe DA (1988) Nutritional evaluation of tortillas and tortilla chips from quality protein maize. *Cereal Foods World*. 33:233-236.

14. Serna Saldivar SO, Gomez MH, Rooney LW (1990) The Chemistry, Technology and

Nutritional Value of Alkaline-Cooked Corn Products Ch. 4 In: *Advances of Cereal Science and Technology*. Vol. 10, Y. Pomeranz, ed. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN.

15. Eggum BO, Villegas E, Vasal SK (1979) Progress in protein quality of maize. *J. Sci. Food Agric*. 30: 1148.

16. Bressani R (1990) Chemistry, technology and nutritive value of maize tortillas. *Food Revs. Intl.*: 22-264.

17. Bieri JG (1980) Second report of the adhoc committee on standards for nutritional studies. *J. Nutr*. 110: 1726.

18. AOAC (1990) "Official Methods of Analysis", 15th edn. Arlington, VA. Association of Official Analytical Chemists.

19. Kamp RM (1991) High-sensitivity amino acid analysis using high performance liquid chromatography and precolumn derivatization. LC-GC Intl: 4:40-46.

20. FAO/WHO (1990) Protein quality evaluation. Report of joint expert consultation. Paper 51. Food and Nutrition. Food and Agriculture Organization of the United Nations: Rome.

21. Serna Saldívar SO, Knabe DA, Rooney LW, Tanksley TD (1987) Effects of lime cooking on energy and protein digestibilities of maize and sorghum. Cereal Chem. 64(4):247-252.

22. Neldner KH (1988) Diseases of the skin. Ch. 22 In: Clinical Nutrition. D.M. Paige, ed. Second Edition. The C.V. Mosby Co., St. Louis MI.

23. Koeppe OJ, Henderson LM (1955) Niacin-tryptophan deficiency resulting from imbalances in amino acid diets. J. Nutr. 55:23-33.

24. Sullivan JS, Knabe DA, Bockholt AJ, Gregg EJ (1989) Nutritional value of quality protein maize and food corn for starter and growth pigs. J. Anim. Sci. 67: 1285-1292.

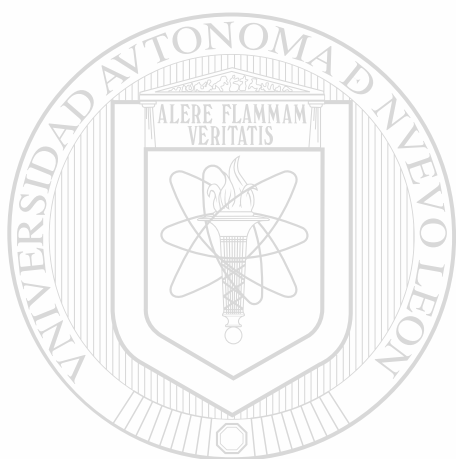
25. Bressani R, Murillo B, Elias LG (1974) Whole soybean as a means of increasing protein and calories in maize based diets. J. Food Sci. 39: 507-580.

26. Alexander MH, Lazan KS, Rasmussen KM (1988) Effect of the chronic protein-energy malnutrition on fecundability, fecundity and fertility in rats. J. Nutr. 118:883-887.

27. Friggers NC, Hay DE, Oldham JD (1993) Interactions between major nutrients in the diet and the lactation performance of rats. Br. J. Nutr. 69:59-71.

28. Rasmussen KM (1988) Effects of under-and overnutrition on lactation on laboratory rats. *J. Nutr.* 128:390S-393S.

29. Sakanashi TM, Brigham HE, Rasmussen KM (1987) Effect of the dietary restriction during lactation on cardiac output, organ blood flow and organ weights of rats. *J. Nutr.* 117:1469-1474.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Table 1. Chemical Composition, Digestible Energy and Essential Amino Acid Composition of Dry Tortilla Based Diets¹

Diet ²	FM	REDMF	FEDMF	EQPM	FEQPM	Control ³
Moisture (%)	6.23	6.66	7.32	6.78	7.02	9.72
Ash (%)	2.65	1.82	1.79	1.66	1.72	4.15
Protein (%)	9.5	9.4	11.0	9.6	10.5	16.9
Ether extract (%)	3.23	3.06	4.04	3.67	3.90	4.85
Crude fiber (%)	1.54	1.32	1.12	1.29	1.23	0.37
NFE ⁴ (%)	83.1	84.4	82.1	83.8	82.7	73.7
DE ⁵ (cal/100g)	399.5	402.7	408.8	406.6	407.9	406.5
Amino acid composition⁶						
His	2.3	2.9	2.8	3.1	3.5	2.9
Ile	3.1	3.8	3.8	2.3	3.4	5.1
Leu	10.5	11.7	11.4	7.5	9.6	10.8
Lys	3.0	3.4	4.7	4.2	4.9	8.6
Met+Cys	2.9	3.9	3.7	3.5	3.5	3.9
Phe+Tyr	6.2	7.2	7.9	6.4	6.3	9.2
Thr	2.8	3.8	3.9	3.5	3.1	4.2
Trp	0.8	0.7	1.0	0.9	1.0	1.6
Val	3.7	4.8	5.2	5.2	5.0	6.9
EAA Score ⁷ (%)	51.7	58.6	81.0	72.4	84.5	100.0

¹ Values are means of two observations and expressed on dry matter basis.

² FM = tortilla based diet from fresh masa; REDMF = tortilla based diet from regular dry masa flour; FEDMF = tortilla based diet made from enriched dry masa flour and fortified with 6% defatted soybean meal; EQPM = tortilla based diet from enriched dry masa flour from quality protein maize; FEQPM = tortilla based diet from enriched QPM dry masa flour fortified with 3% defatted soybean meal; Control = casein based diet.

³ The control diet consisted of 20.0% casein (AIN Purified High Nitrogen), DL-Methionine 0.3%, 5% cellulose (Alphacel, ICN Biomedicals), 1% vitamin mixture (AIN 76, ICN Biomedicals), 3.5% mineral mixture (AIN 76, ICN Biomedicals), 50% corn starch, 15.2% sucrose, 5% vegetal oil with 0.005% BHT.

⁴ NFE = Free Nitrogen Extract.

⁵ DE (Digestible Energy) = (%NFE * 4 kcal/g) + (%protein * 4 kcal/g) + (%ether extract * 9 kcal/g).

⁶ Amino acid values are expressed as g AA/100 g protein (dry basis).

⁷ EAA (Essential Amino Acid) Score = Limiting EAA / requirement for a 2 year old child FAO/WHO [28].

Table II. Effects of Tortilla Fortification and Enrichment on Growth of First and Second Generation Post weaned Rats¹

First Generation						
Diets²	FM	REDMF	FEDMF	EQPM	FEQPM	Control
Initial Wt.³ (g)	48.55 ^a	48.23 ^a	48.45 ^a	48.64 ^a	48.45 ^a	48.10 ^a
Final Wt.⁴ (g)	68.98 ^a	88.01 ^b	121.12 ^d	113.02 ^c	120.67 ^d	135.77 ^e
ΔWt.⁵ (g)	20.43 ^a	39.78 ^b	72.67 ^d	64.38 ^c	72.22 ^d	87.67 ^e
FI⁶ (g)	218.6 ^a	298.6 ^b	348.7 ^{bc}	364.3 ^c	321.5 ^{bc}	214.2 ^a
PI⁷ (g)	20.8 ^a	28.1 ^b	38.4 ^c	35.0 ^c	33.8 ^c	36.2 ^c
ΔWt/PI (g)	0.98 ^a	1.41 ^b	1.89 ^c	1.84 ^c	2.13 ^d	2.42 ^c
Second Generation						
Diets	FM	REDMF	FEDMF	EQPM	FEQPM	Control
Initial Wt.³ (g)	22.62 ^a	29.8 ^b	36.81 ^c	34.78 ^c	37.59 ^c	42.13 ^d
Final Wt.⁴ (g)	38.1 ^a	48.21 ^b	84.35 ^d	78.92 ^c	87.53 ^d	123.46 ^e
ΔWt.⁵ (g)	15.48 ^a	18.41 ^b	47.54 ^{cd}	44.14 ^c	49.94 ^d	81.33 ^e
FI⁶ (g)	328.5 ^d	307.6 ^c	246.7 ^a	268.9 ^b	242.1 ^a	323.0 ^d
PI⁷ (g)	31.3 ^c	28.91 ^b	27.14 ^{ab}	25.82 ^a	25.42 ^a	35.21 ^d
ΔWt/PI (g)	0.49 ^a	0.63 ^b	1.75 ^c	1.71 ^c	1.96 ^d	2.31 ^c

¹ Means with different letter (s) within row were statistically different ($P < 0.05$).

² FM = tortilla based diet from fresh masa; REDMF = tortilla based diet from regular dry masa flour; FEDMF = tortilla based diet made from enriched dry masa flour and fortified with 6% defatted soybean meal; EQPM = tortilla based diet from enriched dry masa flour from quality protein maize; FEQPM = tortilla based diet from enriched QPM dry masa flour fortified with 3% defatted soybean meal; Control = casein based diet.

³ Initial Wt. = Initial rat weight.

⁴ Final Wt = Final rat weight after 28 day growth.

⁵ Δ WT = Weight gain.

⁶ FI = Food Intake (28 days).

⁷ PI = Protein Intake (28 days).

Table III. Effects of Tortilla Fortification and Enrichment on Digestibilities and Nitrogen Retention¹

<i>Diets²</i>	<i>Apparent Digestibilities</i>			<i>Net Protein Utilization (%)</i>	<i>PDCEAAS³</i> (%)
	<i>(%)</i>		<i>Biological Value (%)</i>		
	<i>Dry Matter</i>	<i>Protein</i>			
FM	90.14 ^a	85.70 ^{ab}	39.35 ^a	33.83 ^a	44.31 ^a
REDMF	90.34 ^a	85.65 ^{ab}	55.64 ^b	47.75 ^b	50.19 ^b
FEDMF	88.24 ^a	83.35 ^a	69.99 ^d	58.34 ^d	67.51 ^d
EQPM	92.46 ^b	86.94 ^b	64.23 ^c	55.89 ^c	62.94 ^c
FEQPM	89.63 ^a	85.02 ^{ab}	69.59 ^d	59.16 ^d	71.84 ^d
Control	95.65 ^c	94.53 ^c	72.21 ^e	68.27 ^e	94.53 ^e

¹ Means with different letter (s) within column were statistically different (P<0.05).

² FM = tortilla based diet from fresh masa; REDMF = tortilla based diet from regular dry masa flour; FEDMF = tortilla based diet made from enriched dry masa flour and fortified with 6% defatted soybean meal; EQPM = tortilla based diet from enriched dry masa flour from quality protein maize; FEQPM = tortilla based diet from enriched QPM dry masa flour fortified with 3% defatted soybean meal; Control = casein based diet.

³ Protein digestibility corrected essential amino acid scores.

Table IV. Effects of Tortilla Fortification on Pregnancy Rate, Litter Weight and Growth Performance of unweaned newborn rats¹

Diets ²	Pregnancy Rate (%)	Number Newborn per litter	Newborn Birth Weight (g)	Newborn Weaning Weight (g)	Survival Rate ³ (%)
FM	37.5 ^a	3.4 ^a	4.2 ^a	22.6 ^a	26.4 ^a
REDMF	77.7 ^b	6.4 ^b	4.5 ^{ab}	29.8 ^b	53.2 ^b
FEDMF	100 ^c	9.0 ^c	4.7 ^b	36.8 ^c	74.6 ^c
EQPM	100 ^c	8.2 ^c	4.5 ^{ab}	34.8 ^c	68.4 ^c
FEQPM	100 ^c	9.3 ^c	4.9 ^b	37.6 ^c	77.4 ^c
Control	100 ^c	11.2 ^d	5.2 ^c	42.1 ^d	86.3 ^d

¹ Means with different letter (s) within column were statistically different (P<0.05).

² FM = tortilla based diet from fresh masa; REDMF = tortilla based diet from regular dry masa flour; FEDMF = tortilla based diet made from enriched dry masa flour and fortified with 6% defatted soybean meal; EQPM = tortilla based diet from enriched dry masa flour from quality protein maize; FEQPM = tortilla based diet from enriched QPM dry masa flour fortified with 3% defatted soybean meal; Control = casein based diet.

³ % rats that survived 21 days after birth.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

