



UNIVERSIDAD VERACRUZANA



INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS

**EFFECTO DE LA INGESTA DE TORTILLA AZUL
ADICIONADA CON ÁCIDOS ORGÁNICOS Y
PROCESADA CON MICROONDAS, SOBRE EL
DESARROLLO DEL HIPOCAMPO EN LA RATA WISTAR**

Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias
Alimentarias

Presenta:

L. N. Paola Fernanda González Nieto

Directoras de tesis

Dra. Rosa Isela Guzmán Gerónimo

Dra. Mayvi Alvarado Olivarez

Xalapa, Ver

Enero 2018



La presente tesis titulada

Efecto de la ingesta de tortilla azul adicionada con ácidos orgánicos y procesada con microondas, sobre el desarrollo del hipocampo en la rata Wistar

Realizada por la

L. en N. PAOLA FERNANDA GONZÁLEZ NIETO

Ha sido aprobada por el comité de evaluación de tesis, y aceptada como requisito parcial para la obtención del grado de:

Maestro en Ciencias Alimentarias

Otorgando su autorización como jurado para ser presentada y defendida oralmente el 12 de enero de 2018.

Dr. Micloth López del Castillo Lozano

Dr. Oscar García Barradas

Dr. José Enrique Meza Alvarado



El presente trabajo se realizó en el laboratorio de desarrollo e investigación del Instituto de Ciencias Basicas, y en el laboratorio de Neurofisiología del Instituto de Neuroetologia de la Universidad Veracruzana, bajo la direccion de las profesoras Dra. Rosa Isela Guzmán Gerónimo y Dra. Mayvi Alvarado Olivarez.

DEDICATORIAS

A Dios por guiarme en este camino y permitirme acabar mis estudios

A mi mamá Clara por estar siempre a mi lado y darme el apoyo cuando más lo necesito

A mis hermanos Rafa y Eder por escuchar mis dudas y aclarármelas.

A mi novio Uriel por ser paciente y apoyarme en esta etapa de mi vida.

A mis amigas: Joana, Christ, Ere, Marli, Claudia, Daniela y Yahel.

A mis compañeros de generación: Naida, Alejandra, Montse, Anita, Rosi, Jesús, Ana Lilia y Liliana.

A mis compañeros de laboratorio: Mary Paz, Vicky, Roxana, Delia, Canela, Bárbara, Arturo, Héctor, Ari, Saret, Manuel y Laura.

A todos los que contribuyeron de alguna manera en este proyecto.

¡MUCHAS GRACIAS!

AGRADECIMIENTOS

El autor agradece al CONACyT por el apoyo brindado a través de la beca otorgada

A la Dra. Rosa Isela Guzmán Gerónimo por el apoyo, por su paciencia y el conocimiento otorgado para este proyecto

A la Dra. Mayvi Alvarado Olivarez por el apoyo y el conocimiento brindado para la elaboración de esta tesis.

A la Dra. María del Socorro Herrera Meza por transmitir sus conocimientos en el cuidado de los animales de laboratorio.

A los Doctores que imparten clases en la Maestría de Ciencias Alimentarias por el conocimiento brindado.

Al mis sinodales el Dr. Micloth López del Castillo Lozano, Dr. Oscar García Barradas y Dr. José Enrique Meza por el conocimiento y tiempo para la revisión de esta tesis.

INDICE

1. RESUMEN	6
2. ABSTRACT	7
3. INTRODUCCIÓN	8
4. MARCO TEÓRICO.....	10
4.1 El maíz.....	10
4.1.1 Generalidades del maíz y su taxonomía	10
4.1.2 Estructura del grano	12
4.1.3 Composición química del maíz azul	13
4.1.4 Elaboración de tortillas y nixtamalización.....	13
4.2 Antocianinas	14
4.2.1 Funciones de las antocianinas en las plantas	16
4.2.2 Factores que afectan la estabilidad de las antocianinas	16
4.2.3 La nixtamalización y su efecto en las antocianinas	17
4.3 Actividad biológica de las antocianinas: efecto neuroprotector.....	19
4.4 Factores que favorecen la estabilidad de las antocianinas.....	20
4.5 Ácidos orgánicos	21
4.5.1 Los ácidos orgánicos en la industria de los alimentos.....	21
4.5.2 Ácido gálico.....	22
4.4.3 Ácido cítrico.....	23
4.6 Microondas	24
4.7 Importancia de la alimentación del feto.....	25
4.8 Hipocampo.....	27
4.8.1 Funciones del hipocampo	29
4.8.2 Alteraciones en el hipocampo en edad temprana	31
5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	33
6. OBJETIVOS	34
6.1 Objetivo general.....	34
6.2 Objetivos específicos	34

7. HIPÓTESIS	34
8. MATERIALES Y MÉTODOS	35
8.1 Materia prima.....	35
8.2 Nixtamalización tradicional del grano de maíz azul	35
8.3 Nixtamalización con microondas y adicionada con ácido orgánico del grano de maíz azul	35
8.4 Elaboración de la tortilla a partir de maíz azul	36
8.5 Elaboración del extracto de tortilla de maíz azul.....	36
8.6 Cuantificación de polifenoles totales.....	37
8.7 Análisis de antocianinas monoméricas	37
8.8 Actividad antioxidante por DPPH.....	38
8.9 Prueba sensorial “bench top”	38
8.10 Prueba biológica	38
8.10.1 Modelo animal.....	38
8.10.2 Extracción del material biológico.....	40
8.10.3 Fijación del cerebro	41
8.10.4 Deshidratación e inclusión en parafina.....	41
8.10.5 Cortes del bloque	41
8.10.6 Tinción de Nissl.....	42
8.10.7 Conteo celular y Tamaño de las células.....	42
8.10.8 Análisis estadístico.....	43
9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	44
9.1 Análisis químicos	44
9.1.1 Determinación de polifenoles totales y antocianinas monoméricas en la tortilla nixtamalizada adicionada con y sin ácido cítrico	44
9.1.2 Determinación de la actividad antioxidante en la tortilla nixtamalizada con y sin ácido cítrico	46
9.1.3 Determinación de polifenoles totales y antocianinas monoméricas en la tortilla azul nixtamalizada adicionada con y sin ácido gálico	47
9.1.4 Actividad antioxidante en la tortilla azul nixtamalizada con y sin ácido gálico.....	50
9.2 Prueba sensorial.....	51

9.3 Efecto de la administración de la tortilla nixtamalizada tradicional con y sin ácido gálico en el modelo animal.....	53
9.3.1. Peso corporal de las hembras alimentadas con tortillas por nixtamalización tradicional con y sin ácido gálico durante la gestación	53
9.3.2. Número de fetos por hembra gestante de la tortilla nixtamalizada tradicional con y sin ácido gálico.....	54
9.3.3. Peso de los fetos de la tortilla nixtamalizada tradicional con y sin ácido gálico.....	55
9.4 Efecto de la administración de la tortilla nixtamalizada por microondas con y sin ácido gálico en el modelo animal	57
9.4.1. Peso corporal de las hembras alimentadas con tortilla nixtamalizada por microondas con y sin ácido gálico.....	57
9.4.2. Número de fetos por hembra gestante de la tortilla nixtamalizada por microondas con y sin ácido gálico.....	58
9.4.3. Peso de los fetos de la tortilla nixtamalizada por microondas con y sin ácido gálico	59
9.5 Número de células en el giro dentado en fetos de ratas hembras alimentadas con tortilla nixtamalizada tradicional con y sin ácido gálico	61
9.6 Número de células en el giro dentado en fetos de ratas hembras alimentadas con tortilla nixtamalizada por microondas con y sin ácido gálico...	64
9.7 Tamaño de las células del giro dentado de los cinco grupos de estudio	66
10. CONCLUSIONES.....	70
11. PERSPECTIVAS.....	71
12. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	72
13. ANEXOS	84

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación taxonómica del maíz (<i>Zea mays</i>).....	11
Cuadro 2. Contenido de antocianinas en granos de maíz azul	18
Cuadro 3. Pérdida de antocianinas en maíz mixteco y bolita.	19

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura del grano de maíz..	12
--	----

Figura 2. Estructura y sustituyentes de las antocianinas	15
Figura 3. Estructura del ácido gálico..	22
Figura 4. Estructura del ácido cítrico.	24
Figura 5. Relación entre las etapas de la gestación, tipo de nutrición y desarrollo de embrión y feto.....	27
Figura 6. Circuito básico del hipocampo.	28
Figura 7. Esquema de comparación del desarrollo cerebral en ratas y humano...	30
Figura 8. Grupos experimentales:	40
Figura 9. Corte coronal del cerebro	43
Figura 10. Tortilla de maíz azul en los diferentes procesos de nixtamalización con o sin ácido cítrico.....	45
Figura 11. Contenido de polifenoles en la tortilla nixtamalizada con y sin ácido cítrico:.....	45
Figura 12. Contenido de antocianinas en la tortilla nixtamalizada con y sin ácido cítrico.....	46
Figura 13. Actividad antioxidante en la tortilla nixtamalizada con y sin ácido cítrico.	47
Figura 14. Tortilla de maíz azul en los diferentes procesos de nixtamalización con o sin ácido gálico.....	49
Figura 15. Contenido de polifenoles totales en la tortilla nixtamalizada con y sin ácido gálico.	49
Figura 16. Contenido de antocianinas en la tortilla nixtamalizada con y sin ácido gálico.....	50
Figura 17. Actividad antioxidante en la tortilla nixtamalizada con y sin ácido gálico.	51
Figura 18. Parámetros con mayor nivel de agrado de la prueba sensorial.	52
Figura 19. Peso corporal de la hembra ganado durante la gestación del modelo tradicional.....	54
Figura 20. Promedio total de fetos por hembra preñada del modelo tradicional ...	55
Figura 21. Promedio del peso en fetos del modelo tradicional.	56
Figura 22. Peso corporal de la hembra ganado durante la gestación del modelo por microondas.....	57
Figura 23. Promedio total de fetos por hembra preñada del modelo por microondas	59
Figura 24. Promedio del peso en fetos del modelo por microondas.....	60
Figura 25. Hipocampo con la zona del giro dentado del modelo tradicional	61
Figura 26. Conteo celular en el giro dentado del hipocampo del modelo tradicional	63
Figura 27. Hipocampo con la zona del giro dentado del modelo por microondas .	64
Figura 28. Conteo celular en el giro dentado del hipocampo del modelo por microondas.....	66

Figura 29. Clasificación del tamaño de células en todos los grupos experimentales:	69
Figura 30. Prueba sensorial	84
Figura 31. Curva de calibración para polifenoles totales	84
Figura 32. Curva de calibración para DPPH.....	85
Figura 33. Corte coronal de los dos hemisferios cerebrales del hipocampo en feto	85
Figura 34. Constancia de presentación a congreso	86
Figura 35. Constancia de presentación a curso	87
Figura 36. Constancia de presentación a simposio	88

1. RESUMEN

La nutrición es fundamental para que el organismo cumpla sus funciones fisiológicas. Durante la gestación es esencial el adecuado suministro de nutrientes para el buen desarrollo del feto. Alimentos básicos como el maíz (*Zea mays*) y en específico el azul contienen antocianinas que ayudan a la estimulación de la neurogénesis. Sin embargo, el proceso de nixtamalización degrada a las antocianinas. El presente trabajo exploró los efectos de la nixtamalización y los procesos alternos para mantener sus propiedades biológicas. Se seleccionó la nixtamalización por microondas adicionada con ácido gálico para continuar con la prueba biológica, obteniendo 479.79 ± 0.06 mg polifenoles totales Eq de ácido gálico/100 g y de antocianinas 61.02 ± 1.80 mg C3G/100 g con un incremento del 43% y del 69% respectivamente en comparación con la nixtamalización tradicional. Para esto, se realizó el estudio histológico del giro dentado del hipocampo, el cual participa en procesos de aprendizaje, memoria, percepción espacial y en especial la neurogénesis; proceso que se lleva a cabo en la etapa prenatal y continúa en la adultez en la zona del giro dentado. A cinco grupos de ratas hembra Wistar, se les extrajeron los fetos en el día 20 de gestación. A los fetos se les procesó el cerebro y se contó el número de células por unidad de área (células/mm²) del giro dentado. El grupo alimentado con tortilla nixtamalizada por microondas adicionada con ácido gálico predominó con valores de 7305.09 ± 515.23 células/mm² teniendo un incremento del 33% comparada con el control. El uso del microondas favorece el tamaño de las células, del rango $< 30 \mu\text{m}^2$ y las de rangos $\geq 30 \mu\text{m}^2$ microondas duplicó el tamaño de las células, mientras que microondas sin la adición de ácido gálico favorece al incremento en las de mayores rangos $\geq 60 \mu\text{m}^2$. Estos datos sugieren que el proceso de nixtamalización por microondas y adicionada con ácido gálico retiene mayor cantidad de antocianinas y mejora su actividad biológica.

Palabras clave: *Zea mays*, antocianinas, ácido gálico, giro dentado.

2. ABSTRACT

Nutrition is essential for the body to carry out its physiological functions. During pregnancy, the adequate supply of nutrients is essential for the proper development of the fetus. Basic foods such as corn (*Zea mays*) and specifically blue corn have anthocyanins (antioxidants), a bioactive compound that helps stimulate neurogenesis. However, the process of nixtamalization degrades anthocyanins. This work explored the effects of nixtamalization and alternative processes to maintain their biological properties. The nixtamalization by microwaves added with gallic acid was selected to continue with the biological test, obtaining 479.79 ± 0.06 mg total polyphenols Eq of gallic acid/100g and of anthocyanins 61.02 ± 1.80 mg C3G/100g with an increase of 43% and 69% respectively compared to traditional nixtamalization. A histological study of the dentate gyrus of the hippocampus was performed as it participates in important processes such as: learning, memory, spatial perception and especially neurogenesis; process that takes place in the prenatal stage and continues in adulthood in the area of the dentate gyrus. It was developed in 5 groups with Wistar female rats, the fetuses were extracted on day 20 of gestation. The fetuses were brain processed and the number of cells was counted per unit area (cells/mm²) of the dentate gyrus. The group of tortilla nixtamalizada by microwaves added with gallic acid predominated with values of 7305.09 ± 515.23 cells/mm² having an increase of 33% compared with the control. The cells size, the range < 30 μm^2 the use of the microwave and the favorable ranges $\geq 30 \mu\text{m}^2$ microwaves doubled the cells size, while in the ranges greater than 60, without the addition of acid stimulated the increase. These data suggest that the process of nixtamalization by microwaves and added with gallic acid retains a greater quantity of anthocyanins and improves its biological activity.

Keywords: *Zea mays*, anthocyanins, gallic acid, dentate gyrus.

3. INTRODUCCIÓN

México es el centro de origen y diversidad del maíz, con 59 razas, reconocidas hasta ahora y muchas más sub-razas y variedades locales, clasificadas con base en caracteres morfológicos, bioquímicos, citogenéticos y moleculares (Sánchez et al., 2000). La diversidad de razas de maíz que existen a lo largo del país, son el resultado del trabajo de los agricultores mexicanos a través de los siglos. Estos maíces nativos tienen una gran variedad en el color del grano, la textura, la composición y la apariencia. En cuanto a su composición, los maíces contienen fibra dietética, ácido fólico, tiamina, niacina, carotenoides, xantofilas, fitoesteroles y compuestos fenólicos (Escalante-Aburto *et al.*, 2013).

En México, los maíces azules nativos representan una importante fuente de compuestos bioactivos, en particular de antocianinas. Al igual que los maíces amarillos y blancos, los maíces azules son empleados para la elaboración de tortillas, alimento básico para la población mexicana cuya ingesta es de 157 g/ día (ENIGH, 2010). Sin embargo, la transformación del maíz en tortillas requiere de un proceso de nixtamalización, proceso térmico-alkalino que influye en la composición química del maíz elaborado, dando lugar a modificaciones en su contenido de nutrientes y compuestos bioactivos como las antocianinas, cuya estabilidad de su estructura depende de factores como pH y temperatura. El porcentaje de pérdida de estos compuestos varía de acuerdo al tipo de antocianinas, la raza del maíz, características del grano, y a la ubicación del pigmento en el grano. Es por ello que resulta importante explorar la aplicación de tecnologías no convencionales en el proceso de nixtamalización que permitan mantener en mayor grado el contenido de las antocianinas en las tortillas como son las microondas, que se caracterizan por aplicar alta temperatura en corto tiempo minimizando la degradación de compuestos bioactivos como las antocianinas (Pérez-Grijalva *et al.* 2018) y con ello mejorar su actividad biológica. Por otra parte, estudios previos realizados por nuestro grupo de investigación indican que el empleo de ácidos orgánicos como el ácido cítrico mantienen en mayor grado las antocianinas (Guzmán-Gerónimo *et al.*, 2017; Pérez-Grijalva *et al.*

2018) y que el consumo de tortilla de maíz azul incrementa el área nuclear de las neuronas y el tamaño del hipocampo en ratones macho de la cepa Balb/C (Alarcón *et al.*, 2016).

Con base a lo anterior se considera de interés particular generar conocimiento acerca del consumo de tortilla de maíz azul durante el embarazo y su impacto en el desarrollo de una estructura importante del sistema nervioso como lo es el hipocampo, en particular evaluar la capacidad neuroprotectora y la estimulación de la neurogénesis en la etapa gestacional, etapa en la que es vital que el sistema nervioso tenga un mejor desarrollo, ya que anomalías en el hipocampo como es la subregión del giro dentado están relacionadas con enfermedades como el autismo. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo de investigación fue evaluar el efecto de la ingesta de tortilla azul adicionada con ácidos orgánicos y procesada con microondas sobre el desarrollo del hipocampo en la rata Wistar.

4. MARCO TEÓRICO

4.1 El maíz

4.1.1 Generalidades del maíz y su taxonomía

La palabra Maíz significa literalmente “lo que sustenta la vida”, junto con el trigo y el arroz es uno de los cereales más importantes del mundo; suministra nutrientes esenciales a los seres humanos y a los animales. Con una antigüedad aproximada de 7000 años en América Central (FAO, 1993), las culturas indígenas prehispánicas han reconocido el valor de los maíces criollos desde hace mucho tiempo, como lo fueron los aztecas, mayas e incas que lo relacionaron con el culto de deidades de la alimentación y subsistencia (Saldívar, 2009).

En el continente americano se han reportado aproximadamente unas 220 razas de maíz (Goodman y Mck. Bird, 1977) de las cuales 64 se han identificado, y descrito en su mayoría, para México (Anderson, 1946; Wellhausen *et al.*, 1951; Hernández y Alanís 1970; Sánchez *et al.*, 2000)

El maíz azul pertenece al reino Plantae (Cuadro 1) y nuestras culturas prehispánicas llamaron centli a la mazorca y tlaolli al grano.

Cuadro 1. Clasificación taxonómica del maíz (*Zea mays*)

Reino	Plantae
Clase	Angiosperma
Subclase	monocotiledónea
Orden	Cereales
Familia	Gramíneas
Subfamilia	Panicoidea
Nombre común	Maíz (<i>Zea mays</i>)

(Galarza 2011).

En el continente americano se han reportado aproximadamente unas 220 razas de maíz (Goodman y Mck. Bird, 1977) de las cuales 59 se han identificado, y descrito en su mayoría, para México (Anderson, 1946; Wellhausen *et al.*, 1951; Hernández y Alanís 1970; Sánchez *et al.*, 2000). Entre estos maíces se encuentra la raza Mixteco, una amplia diversidad de maíces distribuidos desde el sur de Puebla hasta la Mixteca Alta en Oaxaca con características intermedias entre las razas Cónico y Chalqueño, del centro del país, con la raza Bolita de los Valles Centrales de Oaxaca y las razas Pepitilla y Ancho de Guerrero (CONABIO, 2017).

La raza mixteca fue descrita por Benz (1986) y posteriormente también fue colectada por Aragón *et al.*, (2006) en la región mixteca. Estos últimos propusieron que se declare a la región de Chalcatongo de Hidalgo como la zona donde se implemente una estrategia de conservación in situ para la raza, debido a la alta variabilidad que ellos encontraron. La coloración del maíz Mixtecocomprende granos blancos, amarillos, pintos, rojos y azules, siendo éstos últimos empleados en la presente investigación.

4.1.2 Estructura del grano

El maíz azul se caracteriza por sus mazorcas alargadas con granos cristalinos y semiharinosos de coloración azul a violáceo en la aleurona (García *et al.*, 2010; Hernández & Alanís 1970; Ramírez *et al.*, 2005). Por medio de los productos de la fotosíntesis los granos de maíz se logran desarrollar, la espiga que es el conjunto de flores que nace de un tallo, se forma por la absorción a través de las raíces y el metabolismo de la planta de maíz. Esta estructura puede contener de 300 a 1000 granos según el número de hileras y el diámetro y longitud de la mazorca. El peso del grano siempre variando entre los 19 a 30 g por cada 100 granos. Durante la recolección, las mazorcas son arrancadas de la planta. Se pelan las brácteas que son unos órganos propios de las plantas angiospermas, que envuelven la mazorca y luego se separan los granos a mano (FAO, 1993).

El grano tiene cuatro estructuras físicas fundamentales: el pericarpio, cáscara, o salvado; el endospermo; y el germen. En el grano de maíz azul la mayor concentración de antocianinas se encuentra en la capa llamada aleurona en el pericarpio, lo que le proporciona su color característico. En el caso del maíz azul de la raza Mixteco, las antocianinas se encuentran en la capa aleurona y en el endospermo (Figura 1) (Alarcón, 2013).

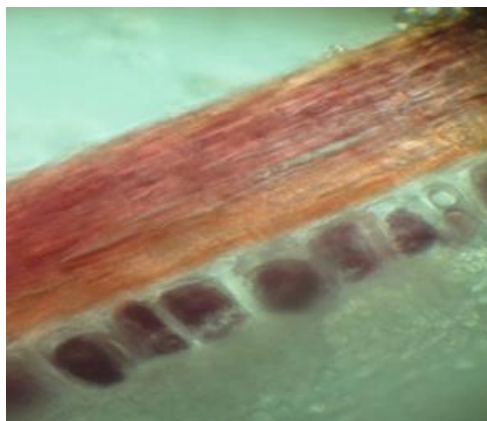


Figura 1. Estructura del grano de maíz. Fuente: Alarcón, 2013.

4.1.3 Composición química del maíz azul

En el grano de maíz azul Los azúcares constituyen aproximadamente el 2 % del peso total del grano y cerca del 65% se encuentran en el germen, de manera más específica los carbohidratos complejos representan el 80 % del peso total de grano, en donde podemos encontrar polisacáridos estructurales (pectina, hemicelulosa, celulosa y lignina) que se encuentran en las paredes del grano y también tenemos de reserva (almidón) el cual se encuentra en el endospermo (Boyer y Shannon, 2001). Las proteínas representan el 10 % del grano y el maíz azul contiene albuminas, globulinas, glutelinas y prolaminas (Badui, 2006).

Los lípidos representan el 5 % del maíz azul, ubicados en el germen con mayor proporción, conteniendo el 84 % en el grano y el 16 % en el endospermo, de los cuales podemos encontrar ácidos linoleico, oleico, palmítico, esteárico y linolénico (Boyer y Shannon, 2001). Contiene también cantidades importantes de fibra, vitaminas, minerales y de compuestos fenólicos volviéndolo un alimento muy rico en compuestos antioxidantes, a los que les podemos atribuir su actividad biológica.

4.1.4 Elaboración de tortillas y nixtamalización

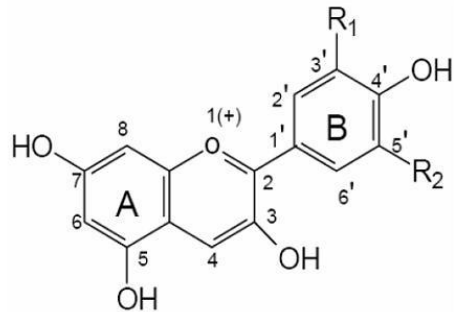
El primer paso para la elaboración de tortillas es la nixtamalización, proceso muy antiguo desarrollado por los aztecas, en el cual el maíz se pone a cocer con cal, se lava con agua para eliminar el exceso de hidróxido de calcio (Ca(OH)_2). Posteriormente es pasado al molino para la obtención de la masa misma que es utilizada para la elaboración de las tortillas. La masa obtenida es una mezcla constituida por los polímeros del almidón (amilosa y amilopectina) mezclados con gránulos de almidón parcialmente gelatinizados.

La reasociación de la amilosa y amilopectina, depende del tiempo y la temperatura, el proceso de nixtamalización, modifica el contenido total de agua y su distribución dentro de éste. La cal actúa en los componentes de la pared celular del grano del maíz y convierte la hemicelulosa en gomas solubles. La solución de hidróxido de calcio degrada y solubiliza los componentes de la pared celular, resultando en la remoción del pericarpio y en el ablandamiento de la estructura del endospermo, lo cual permite la difusión de agua y calcio dentro de los gránulos de almidón (Trejo *et al.*, 1982).

Sin embargo, durante el proceso de nixtamalización se han reportado pérdidas importantes de antocianinas debido a que este proceso afecta la estabilidad de estos compuestos (Hernández *et al.*, 2015).

4.2 Antocianinas

Son pigmentos hidrosolubles que proporcionan colores desde rojos hasta azules, siendo una subclase de flavonoides que se caracterizan por sus efectos a la salud. Por lo general se encuentran en la cáscara o piel (peras y manzanas), pero también se pueden localizar en la parte carnosa (fresas, ciruelas y algunas variedades de maíz); (Badui, 2013). En la clasificación química, se determina como glucósidos de las antocianidinas, la aglicona a la que se le une un azúcar mediante un enlace glucosídico, la estructura química básica de estas agliconas es el ion flavilio (Figura 2); (Wong, 1995).



Aglicona	Substitución		λ_{max} (nm)
	R1	R2	
Pelargonidina	H	H	494 (naranja)
Cianidina	OH	H	506 (naranja-rojo)
Delfinidina	OH	OH	508 (azul-rojo)
Peonidina	OCH3	H	506 (naranja-rojo)
Petunidina	OCH3	OH	508 (azul-rojo)
Malvidina	OCH3	OCH3	510 (azul-rojo)

Figura 2. Estructura y sustituyentes de las antocianinas (Durst y Wrolstad 2001).

El color de las antocianinas depende del número y orientación de los grupos hidroxilo y metoxilo de la molécula. Incrementos en la hidroxilación producen desplazamientos hacia tonalidades azules mientras que incrementos en las metoxilaciones producen coloraciones rojas (Garzón, 2008). Su capacidad antioxidante se debe a los grupos hidroxilo en la posición 3 del anillo C y en las posiciones 3, 4 y 5 del anillo B (Cone, 2007). Las antocianinas que se han encontrado en maíces criollos han sido: cianidina-3-glucósido, pelargonidina-3-glucósido y peonidina-3-glucósido, es por ello que muchos estudios se han enfocado en la actividad biológica de estos compuestos.

4.2.1 Funciones de las antocianinas en las plantas

En los tejidos fotosintéticos, las antocianinas ofrecen protección frente a la radiación ultravioleta, gracias a su capacidad para absorber no solo las frecuencias de radiación roja y azul visible, sino también la radiación ultravioleta (Landi *et al.*, 2015)

En las flores, constituyen una adaptación para atraer a los insectos gracias a sus llamativos tonos rojos y púrpuras, con el propósito de que éstos puedan facilitar la polinización. En los frutos, sus llamativos colores representan una llamada de atención para los animales favoreciendo la dispersión de sus semillas (Landi *et al.*, 2015)

En los árboles con hojas atípicas de color rojo, a las antocianinas se les atribuye una función de camuflaje frente a los herbívoros que se sienten atraídos por el color verde de las plantas, pero que no pueden percibir la luz de color rojo (Landi *et al.*, 2015).

4.2.2 Factores que afectan la estabilidad de las antocianinas

Las antocianinas son degradadas por diversos factores y por consiguiente influir en su actividad biológica, como son:

pH: las antocianinas presentan mayor estabilidad en pH menores a 2 (ácidos) ya que se encuentran en su forma más estable en catión flavilio de color rojo intenso y en pH básicos ocurre una pérdida del protón y se forma su chalcona, que son bastantes inestables e incoloras (Hutchings, 1999).

Temperatura: los incrementos en la temperatura ocasionan el desprendimiento del azúcar glicosilante en la posición 3 de la molécula y apertura del anillo formando chalconas incoloras (Timberlake, 1980).

Enzimas: las enzimas como la polifenoloxidasas, peroxidasas, glicolasas, etc, las degradan transformándolas en compuestos incoloros a través del oscurecimiento enzimático (Maccarrone *et al.*, 1985).

Ácido ascórbico y el oxígeno: el efecto incluye una degradación por el ácido ascórbico produciendo peróxidos, los cuales reaccionan con el azúcar en posición 3 (Maccarone *et al.*,1985), se ha reportado un efecto sinérgico entre el ácido ascórbico y el oxígeno sobre la degradación de la pelargonidina-3-glucósido (Markakis *et al.*,1957).

4.2.3 La nixtamalización y su efecto en las antocianinas

Los compuestos fenólicos están dentro de un grupo de moléculas bioactivas no nutritivas (fotoquímicos) contenidas en frutas, vegetales y granos (Liu, 2004) y el maíz contiene mayor cantidad de fenoles y capacidad antioxidante que otros cereales como el trigo, arroz y avena (Ichikawa *et al.*, 2001; Adom y Liu 2002).

Cabra-Soto *et al.*, (2009) demostraron que los compuestos fenólicos del maíz se encuentran en varias partes anatómicas del grano donde varían en contenido, y que éste se correlaciona con la dureza del grano. En el cuadro 2 se muestra el contenido de antocianinas en diferentes razas de maíz azul.

Cuadro 2. Contenido de antocianinas en granos de maíz azul

Región	Raza de maíz	Antocianinas totales (mgC3G/100g)	Referencia
Oaxaca	Bolita	59	Hernández <i>et al.</i> , (2015)
Estado de México	Chalqueño	69	Zamora-Contreras <i>et al.</i> , (2015)
Estado de México	Cónico	99 - 133	Salinas <i>et al.</i> , (2012)
Tabasco	Olotillo	27.6 - 90.4	Salinas <i>et al.</i> , (2012)
Oaxaca	Conejo	28 - 130	Salinas <i>et al.</i> , (2013)
Oaxaca	Tuxpeño	33 - 114	Salinas <i>et al.</i> , (2013)

(Modificado de Escalante *et al.*, 2013).

Como se ha mencionado anteriormente hay factores que pueden degradar el contenido de antocianinas y durante el proceso de nixtamalización, el maíz es sometido a condiciones de alto contenido de humedad, calor (80 a 105 °C) y un pH elevado (11 a 12), es por ello que hay gran pérdida de estos compuestos. Además otras estructuras químicas derivadas de los polifenoles son afectadas por el rompimiento de enlaces éster, y como consecuencias se liberan fenoles a la solución de cocimiento. La mayor parte de estos compuestos se encuentran en el pericarpio del grano, y son eliminados durante el lavado del nixtamal (De la Parra *et al.*, 2007). Se ha registrado un incremento en el contenido de cianidina 3-glucósido en harinas nixtamalizadas de maíz azul, y un cambio en el perfil de antocianinas de maíces de azul y rojo, por una degradación de compuestos acilados que da lugar a la formación de nuevas estructuras químicas como antocianinas simples. Otros compuestos son prácticamente destruidos en su totalidad por efecto del pH alcalino (Salinas *et al.*, 2003).

Hernández (2015) reportó pérdidas significantes entre dos razas de maíz mostrando como afecta el proceso de nixtamalización a estos compuestos bioactivos, teniendo perdidas arriba del 50%, esta misma razón ha hecho que se busquen alternativas con el objetivo de tener mayor retención de las antocianinas.

Cuadro 3. Pérdida de antocianinas en maíz mixteco y bolita.

Maíz azul		AT (mgC3G/100g)	Pérdida
Mixteco	Grano	71.5	63 %
	Tortilla	27.1	
Bolita	Grano	59	75 %
	Tortilla	14.5	

(Hernández 2015).

4.3 Actividad biológica de las antocianinas: efecto neuroprotector

Las antocianinas presentan una actividad biológica bastante amplia entre las que destacan: anticancerígena, antitumoral, antiinflamatoria, antidiabética, disminución de enfermedades coronarias y efecto neuroprotector entre otras (Ghiselli *et al.*, 1998), es por ello que se realizan varias investigaciones alrededor de ellas, en el presente trabajo, se enfoca en su capacidad de neuroprotección y sobre la estimulación de la neurogénesis, sin embargo, como se mencionó anteriormente hay factores que las degradan y en la nixtamalización podemos ver el claro ejemplo de ello.

Los flavonoides ejercen una multiplicidad de acciones neuroprotectoras dentro del cerebro, incluyendo el potencial para proteger las neuronas contra daños inducidos por neurotoxinas y la habilidad para suprimir la neuroinflamación y el potencial para promover la memoria, el aprendizaje y la función cognitiva. Estos procesos al parecer se llevan a cabo por dos mecanismos, el primero

porque los flavonoides interactúan con proteínas críticas y quinasas de lípidos en cascadas de señalización en el cerebro, llevando a una inhibición de una apoptosis desencadenada por especies neurotóxicas y una mejora de la supervivencia neuronal y plasticidad sináptica. Segundo, los flavonoides inducen efectos benéficos en el sistema vascular permitiendo cambios en el flujo sanguíneo cerebrovascular capaz de causar angiogénesis, neurogénesis y cambios en la morfología neuronal (Vauzour *et al.*, 2008).

4.4 Factores que favorecen la estabilidad de las antocianinas.

Las antocianinas como se mencionó anteriormente se ven afectadas por ciertos factores que alteran su estabilidad, sin embargo, también hay algunos que las mantienen más estables como la copigmentación, que es un fenómeno que hace que el color de las antocianinas sea más intenso, brillante y estable, además las protege de la degradación de luz, calor o pH (Markakis, 1982). Puede llevarse a cabo de tres maneras:

Auto asociación: en donde el copigmento es otra molécula de la antocianina monomérica (Hermosín, 2007).

Copigmentación intermolecular: en donde el copigmento es una molécula de naturaleza distinta a la antocianina monomérica como lo es una molécula de flavonol (Hermosín, 2007).

Copigmentación intramolecular: el copigmento en una porción de la propia molécula de la antocianina monomérica (Hermosín, 2007).

4.5 Ácidos orgánicos

La adición de ácidos orgánicos también favorece a tener una mayor retención de los compuestos bioactivos de los alimentos. Contienen uno o más carboxilos, son aditivos alimentarios importantes, estos ácidos generalmente son llamados “ácidos orgánicos”, son intermediarios de ciclos metabólicos básicos. Tales compuestos incluyen los ácidos cítrico, málico, láctico, acético, tartárico, fumárico, glucónico, etc.

4.5.1 Los ácidos orgánicos en la industria de los alimentos

La incorporación de algún ácido orgánico depende de la aplicación particular, ya que tienen varias propiedades como: poder acidulante, capacidad reguladora de pH, agente quelante de iones metálicos, emulsificante, así mismo influye en las características sensoriales.

La función principal en la acidificación y control del pH en el producto final, es ayudar a retardar el crecimiento de microorganismos indeseables principalmente bacterias (Macy, 1992). Se ha reportado en varios estudios que esta capacidad ayuda a la retención de las antocianinas en procesos en donde los alimentos son sometidos a condiciones en donde habitualmente degradan estos compuestos.

La capacidad acidulante de igual manera está determinada por varios factores, como su funcionalidad, solubilidad, compatibilidad con los otros constituyentes de los alimentos, costo y sabor, aunque no todos cumplen con estas características (Badui, 2013).

4.5.2 Ácido gálico

El ácido gálico (AG) (ácido 3, 4, 5-trihidroxibenzoico es un tipo de ácido fenólico y orgánico (Figura 3), que se encuentra en la corteza de roble y otras plantas. Se puede encontrar libre y como parte de taninos hidrolizables.

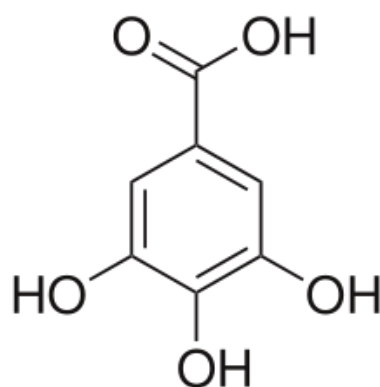


Figura 3. Estructura del ácido gálico. (Harbin, 2008).

Posee propiedades antivirales y antifúngicas, actúa como antioxidante y protector de las células, presenta propiedades citotóxicas contra células cancerígenas (Taitzoglou *et al.*, 2001). Los ésteres del ácido gálico en la industria son usados como antioxidantes, en cosméticos y en la industria farmacéutica.

El ácido gálico es un potente antioxidante al cual se le han reportado también efectos neuroprotectores, en donde sobre un neurotóxico que provoca alteraciones cognitivas y de comportamiento logra mostrar protección a las células que se encuentran en las regiones del hipocampo. Es importante saber que tiene efecto sobre las especies de oxígeno reactivo (ROS, por sus siglas en inglés) como radicales libres y peróxidos, en donde al tener un aumento causan cambios dañinos en las estructuras celulares (Moghadas *et al.*, 2015).

Por otro lado, siendo uno de los ácidos fenólicos más abundantes presenta cierta actividad estrogénica, sin embargo, es debido a que muestra afinidad por receptores ER β , a diferencia de las antocianinas que lo presentan en receptores ER α (Hidalgo *et al.*, 2011).

4.4.3 Ácido cítrico

El ácido cítrico (ácido 2-hidroxi-1,2,3-propanotricarboxílico), es un ácido orgánico (Figura 4) que puede ser considerado natural. Sin embargo, también puede ser sintetizado en laboratorio, se encuentra en casi todos los tejidos animales y vegetales, se presenta en forma de ácido de frutas en el limón, mandarina, lima, toronja, naranja, piña, ciruela, así como en los huesos, músculos y sangre de animales. Es considerado un ácido versátil y ampliamente utilizado en el campo de la alimentación, de los productos farmacéuticos y cosméticos, entre otros. (Thangavelu *et al.*, 2011). Es un buen conservador y antioxidante natural que se añade industrialmente como aditivo. Además de reducir el pH (acción acidulante), el ácido contribuye en la conservación de los alimentos, actúa como saborizante, modificador de la viscosidad, inhibe las reacciones de oscurecimiento y favorece la formación de geles de pectina (Badui, 2013).

Su función biológica más importante es el papel que desarrolla en el ciclo de ácido cítrico (ciclo Krebs) proceso fundamental para la obtención de energía del organismo; por otra parte, funciona como quelante de algunos minerales como el magnesio, cuyo exceso podrían causar daño al organismo (Gupta, 2017).

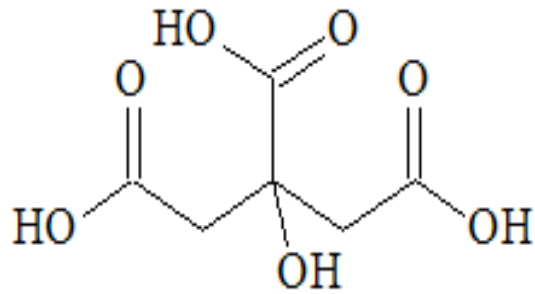


Figura 4. Estructura del ácido cítrico.

El ácido cítrico se vende como un ácido anhidro o monohidrato, y aproximadamente el 70% de la producción total de 1.5 millones de toneladas por año se utiliza en la industria de alimentos y bebidas como acidificante o antioxidante para preservar o mejorar los sabores y aromas de jugos de frutas, helados y mermeladas (Kumar y Jain, 2008).

4.6 Microondas

Otra manera de mantener mayor cantidad de compuestos bioactivos en los alimentos es el uso del microondas, tecnología muy usada en la actualidad y que tiene varias aplicaciones en el procesamiento de alimentos, entre las que destacan secado, pasteurización, esterilización, descongelación, etc. (Gupta y Wong, 2007).

El microondas usa el calentamiento dieléctrico, en ella la energía eléctrica es convertida a radiación electromagnética del tipo no ionizante por lo que la comida preparada en un horno de microondas no representa un riesgo de radiación. Si lo comparamos con el calentamiento tradicional, la penetración del calor es más rápido en un corto tiempo, causando menos daño a las propiedades fisicoquímicas y nutricionales del alimento (Chandrasekaran, 2013).

El rango de frecuencia de las microondas está entre 300 MHz y los 300 GHz, sin embargo las frecuencias permitidas para aplicaciones industriales, científicas y médicas van de 915 MHz a 2450 MHz, esto es debido a que en esas frecuencias las moléculas de agua interactúan con las microondas.

Las microondas son producidas en el horno por un tubo electrónico llamado magnetrón, las microondas se reflejan dentro del interior del metal del horno donde son absorbidas por los alimentos. Estas a su vez hacen que las moléculas de agua en los alimentos vibren, produciendo calor (Decareau, 1985; Baghurst, 1991; Schlegel, 1992).

4.7 Importancia de la alimentación del feto

Sin duda alguna la nutrición juega un papel muy importante en cada etapa de la vida del ser humano, sin embargo durante el embarazo se ve reflejado ese aporte de nutrientes esenciales para el crecimiento y desarrollo del feto. En el embarazo podemos distinguir dos periodos fundamentales, el embrionario que se extiende durante las primeras 8 semanas y el fetal que abarca desde la semana 9 hasta el parto (More, 2003).

En los seres humanos el cerebro es el primer órgano que se desarrolla y, junto con el resto del sistema. Es por ello, que en condiciones de poca disponibilidad de energía, oxígeno y nutrientes, las necesidades del sistema nervioso central se cubrirán antes de las de otros tejidos fetales, como el hígado o los músculos. El corazón y las glándulas suprarrenales son las que continúan después del sistema nervioso central en la jerarquía de objetivos para la liberación preferencial de nutrientes (Gluckman, 2003).

Las deficiencias en el aporte de nutrientes para el embrión y el feto durante períodos críticos de multiplicación celular producirán defectos de por vida en la estructura y función de órganos y tejidos (Barker *et al.*, 2000). Desde la fecundación hasta las 2-3 primeras semanas surgen cambios como el estado de mórula, blastocisto, invasión trofoblástica, formación de las 3 capas embrionarias: endoblasto, ectoblasto y mesoblasto (Figura 5). En esta etapa acontecen mecanismos donde los tejidos crecen debido a la proliferación de células; aquí la nutrición es histiotrófica y depende de los sustratos disponibles en el útero materno. Continúa la fase embrionaria, con la formación de los esbozos de los órganos y tejidos, es una fase que sigue en desarrollo constante, donde la placenta aún no está madura, y el embrión es muy sensible a factores que pueden alterar su desarrollo, pudiendo provocar cambios morfológicos importantes en esta etapa la nutrición es histiotrófica placentaria. A los dos meses de embarazo, comienza la etapa fetal. La placenta termina de madurar y se vuelve un órgano independiente y central en la nutrición fetal (Moore, 2003; Thompson *et al.*, 2008).

La nutrición es probablemente la mayor influencia externa tanto en el feto como en el recién nacido. Es un suministro adecuado de nutrientes esenciales necesarios para el mantenimiento del crecimiento, así como para el desarrollo normal de todas las funciones fisiológicas. En general una adecuada alimentación es esencial en los fetos para: el mantenimiento del funcionamiento de la célula para su existencia, el crecimiento de la formación de nuevo citoplasma, membranas y organelos y para la diferenciación entre tejidos con características específicas (Morgane *et al.*, 1993).

Es importante mencionar que la terminología de feto se determina a organismos con estructuras morfológicas que cuentan con las características propias del individuo, es por ello que en este estudio se utilizó este término.

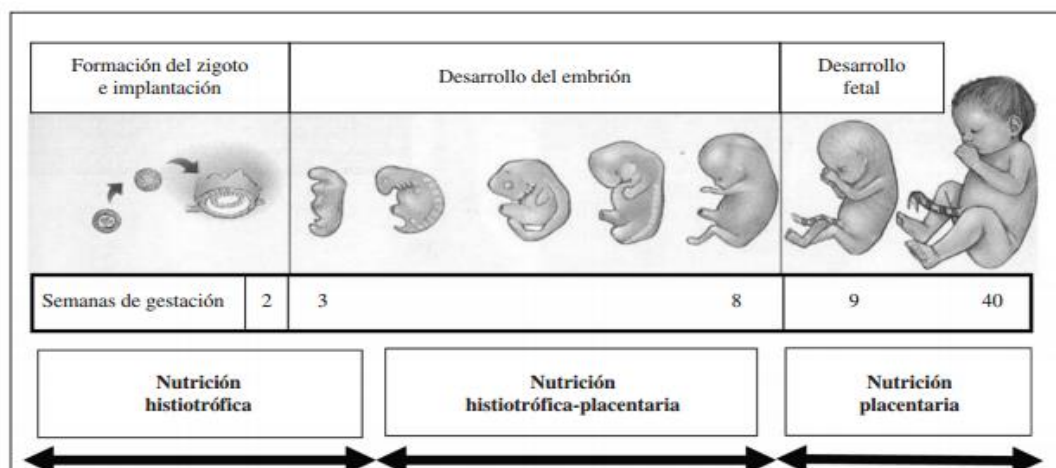


Figura 5. Relación entre las etapas de la gestación, tipo de nutrición y desarrollo de embrión y feto. (Modificada de Muñiz et al., 2013).

4.8 Hipocampo

El hipocampo del humano se desarrolla en la tercera semana de gestación, ubicado en el telencéfalo en su superficie media del lóbulo temporal, presenta varias subdivisiones llamadas cuerno de ammon (CA3, CA2, CA1) y otras regiones que se incluyen en la formación hipocampal: el giro dentado, subiculum, presubiculum, parasubiculum y la corteza entorrinal (Figura 6). Hay mayor tamaño de células piramidales en CA3 y CA2 comparado con CA1, las entradas y salidas de estas áreas también son diferentes. La CA2 es una zona estrecha entre las células que se interponen entre CA3 y CA1 (Ramón y Cajal, 1893). El subiculum, presubiculum y parasubiculum algunas veces son agrupados bajo el termino complejo subicular, ya que cada una tiene diferentes características. El borde entre CA1 y del subiculum ocurre en el punto donde la proyección colateral de Schaffer del área CA3 termina. El presubiculum está adyacente al subiculum y se caracteriza por la capa celular externa densamente empacada de células piramidales. El parasubiculum se caracteriza por células con membranas con

forma puntiaguda que se asemejan, pero son algo mayores y menos compactas que las del presubiculum. La corteza entorrinal es solamente una región del hipocampo que sin ambigüedad demuestra una multilimitada apariencia (Andersen *et al.*, 1971).

El giro dentado es una región trilaminada cortical con forma de V o U, tiene relativamente una forma similar a todos los niveles que forman el hipocampo, en ella se encuentran las células granulares que dan lugar a axones llamados fibras musgosas que conectan con las células piramidales del CA3. Cabe destacar que el giro dentado es una de las zonas del hipocampo en donde el proceso de neurogénesis se lleva a cabo en la etapa prenatal y continúa durante la adultez. Además, las células granulares del giro dentado se ven involucradas en los procesos de aprendizaje y memoria, es una zona que ha sido relacionada en trastornos como el autismo cuya prevalencia en México es 1 de cada 115 niños (Fombonne *et al.*, 2016) debido a ciertos genes como sefamorin 5A, la neurologina y entre otros, que se ven implicados en el desarrollo del giro dentado (Ito *et al.*, 2017). Por otra parte, hay reportes que indican que una mala nutrición durante la etapa de gestación, repercute sobre la memoria y el aprendizaje lo cual lo relacionan con una producción de neuronas reducidas (García *et al.*, 2016). Es por ello que resulta interesante estudiar la zona del giro dentado y que factores como la nutrición pueden favorecer a su buen desarrollo.

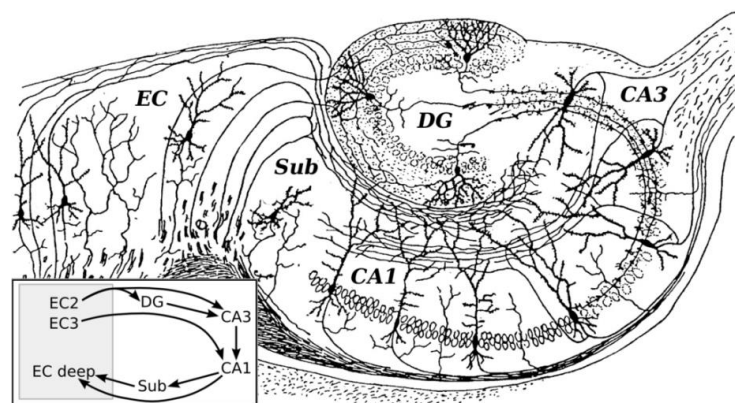


Figura 6. Circuito básico del hipocampo (Ramón y Cajal, 1893).

4.8.1 Funciones del hipocampo

El hipocampo es una de las estructuras cerebrales más importantes del sistema límbico el cual regula respuestas fisiológicas frente a determinados estímulos. Entre estos instintos encontramos la memoria involuntaria, en específico se encarga del aprendizaje y la memoria, la percepción espacial y el proceso de neurogénesis (Deshmukh, 2012).

Memoria y aprendizaje: Son procesos cognitivos que adquirimos, guardamos y donde recuperamos información. El aprendizaje se considera como una modificación estructural y funcional del sistema nervioso que da como resultado un cambio en la conducta relativamente permanente. La información aprendida es retenida o almacenada en los circuitos neuronales que forman el cerebro y constituye lo que denominamos memoria. La memoria es la consecuencia usual del aprendizaje (Olivares *et al.*, 2015). El aprendizaje y la memoria son procesos íntimamente relacionados. Existen dos tipos de memoria, la de corto plazo y largo plazo, en la primera la información es codificada sobre todo de forma visual y acústica, su principal función es organizar y analizar la información (reconocer caras, recordar nombres, contestar en un examen, etc.) y por el otro lado la de largo plazo que contiene nuestros conocimientos del mundo físico, de la realidad social y cultural, nuestros recuerdos autobiográficos, así como el lenguaje y los significados de los conceptos (Unioviedo, 2013).

Neurogénesis: Es el proceso por el que se generan nuevas células a partir de células madres y progenitoras (Birbrair *et al.*, 2013). El desarrollo del sistema nervioso central en el feto se fundamenta en la presencia de las células gliales que liberan factores del crecimiento nervioso y es entre la octava y décimo octava semana gestacional (Figura 7), se produce una activa proliferación neuronal, las células precursoras comienzan a diferenciarse para producir nuevas células y células neuronales y a células gliales (astrocitos y oligodendrocitos) esta proliferación en el humano tiene su clímax en el cuarto mes de gestación

(Morgane *et al.*, 1993), mientras que en la rata (modelo animal) se lleva a cabo en la última semana sabiendo que su etapa gestacional es de 21 a 23 días. El número de células generadas en el cerebro fetal es entre un 30 y un 70% superior al número de neuronas del adulto (Capilla *et al.*, 2004).

Parte del proceso de neurogénesis se encuentra incluido también la apoptosis, que es un proceso de muerte neuronal programada el cual se lleva a cabo en todos los organismos con el objetivo de tener una regulación de procesos biológicos. La apoptosis es moderada por la expresión de ciertos genes como el bcl-2, p53 y c-myc, entre otros. Surgen cambios nucleares citoplasmáticos y en la superficie celular; todos estos cambios son causados por una familia de proteasas, llamada caspasas (Rivas, 2010).

Es importante que se considere una buena supervivencia de las nuevas neuronas, ya que son fundamentales para permitir su integración a los circuitos neuronales del hipocampo (Olivares *et al.*, 2015).

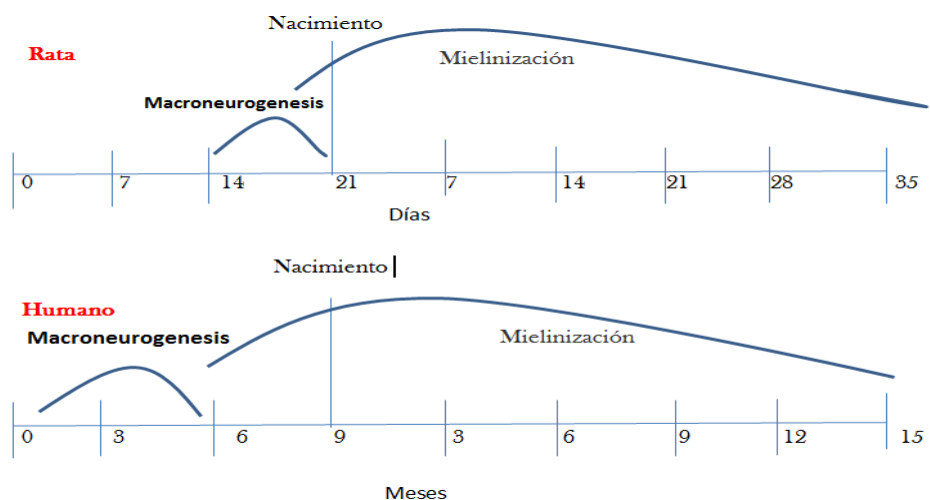


Figura 7. Esquema de comparación del desarrollo cerebral en ratas y humano (Modificado de Morgane *et al.*, 1993).

Percepción espacial: La percepción significa la elaboración cerebral del estímulo recibido del objeto, es un fenómeno mental que corresponde con la apariencia de un objeto externo, cuya presencia ha influido sobre el cerebro por intermedio de una serie de estímulos físicos conocidos, que en el cerebro son “elaborados” de una manera que no conocemos, hasta dar origen a este fenómeno mental (Bustamante, 2007). La percepción espacial es el conocimiento del medio y sus alrededores, es decir, la toma de conciencia del sujeto, de su situación y de posibles situaciones del espacio que le rodea, su entorno, y los objetos que en él se encuentran (Wallon, 1976; Romero, 2001).

4.8.2 Alteraciones en el hipocampo en edad temprana

Como se ha mencionado anteriormente el hipocampo realiza funciones muy importantes, y siendo un tejido esencial del sistema nervioso al no tener un buen desarrollo durante la etapa fetal del humano podría causar daño y verse reflejado en edades tempranas. Entre los problemas identificados que podrían estar asociados a un deficiente desarrollo del hipocampo destacan los siguientes:

Problemas de aprendizaje: son las dificultades en los niños en el rendimiento académico, es difícil concentrarse y en ocasiones pueden desencadenar problemas emocionales. Son individuos normales intelectualmente, que poseen capacidad de esfuerzo en la ejecución de conductas observables, pero en la práctica carecen de una satisfactoria capacidad de asimilación de conceptos. Estos problemas surgen por alteraciones de los procesos cognoscitivos, en gran medida secundarias a algún tipo de disfunción biológica. Su etiología no es conocida, pero se acepta el predominio de los factores biológicos, en interacción con otros como las oportunidades para aprender y la calidad de la enseñanza (Magaña *et al.*, 2001).

Déficit de atención e hiperactividad: el TDAH, con origen en deficiencias anatómico-biológicas que afectan preferentemente a ciertas estructuras cerebrales. Son niños que por lo general no escuchan cuando se les habla directamente, no siguen las instrucciones que se les da, tienen dificultad para seguir conversaciones y para sostener la atención en las actividades. En cuanto a la hiperactividad se refiere son niños que son intranquilos, se levantan del asiento cuando deberían permanecer sentados, en momentos que deberían estar tranquilos se mueven de un lado a otro, tienen dificultades para jugar tranquilamente y actúan como si no pudieran parar, además de hablar excesivamente (Pascual,2008).

Autismo: Surgen alteraciones en el comportamiento social, en la comunicación verbal y no verbal y en el intereses y actividades del niño. Todos los niños autistas muestran alteraciones graves del lenguaje, que pueden abarcar desde una ausencia total del mismo, pasando por déficits en la comprensión y el uso comunicativo del lenguaje verbal y la mímica (Calderon *et al.*, 1988; Rapin y Dunn, 1997; Herber *et al.*, 2002). La conducta del autista presenta también una amplia gama de alteraciones, con frecuencia muestran mal control de impulsos, agresividad verbal, física, autoagresividad, conducta aberrante, etc. Hay que mencionar que no existe una evidencia clara de una causa fisiológica, y se ha aceptado, que el retraso en el desarrollo cognoscitivo puede tener un papel importante en el diagnóstico del síndrome autista, las teorías biológicas han tratado de explicar la etiología del síndrome han sido de gran diversidad, entre ellas se pueden mencionar signos de daños cerebrales, estudios psicofisiológicos, estudios neurológicos, los defectos genéticos (anomalías cromosómicas), daño cerebral prenatal y perinatal, cuadros infecciosos (infecciones virales) y disfunción inmunitaria, estudios que relacionan causas y deficiencias múltiples (Polaino, 1982; Frith, 1992;Wing, 1998).

5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La tortilla es el alimento básico de la dieta de los mexicanos y es elaborada a partir de granos de maíz de color blanco, amarillo, rojo y azul. La tortilla de maíz azul aparte de contribuir a los requerimientos diarios de macronutrientes contiene compuestos bioactivos como son los polifenoles, los cuales poseen diversas propiedades biológicas que benefician a la salud. Sin embargo, durante el proceso de la elaboración de la tortilla, los polifenoles como las antocianinas se degradan hasta un 80% debido al pH alcalino y a la alta temperatura. Es así, que resulta de interés el explorar la aplicación de tecnologías no convencionales como son las microondas en el proceso de elaboración de las tortillas de maíz azul con la finalidad de mantener en mayor grado los compuestos polifenólicos y con ello impactar de manera positiva en la biofuncionalidad de este alimento básico. Por otro lado, existen reportes que sugieren que el empleo de ácidos orgánicos mantiene en mayor grado a las antocianinas.

Si bien es cierto que es importante realizar estudios químicos que aporten información acerca del impacto de la aplicación de nuevas tecnologías en el proceso de elaboración en un alimento como lo es la tortilla, también es importante, evaluar los alcances de la ingesta de este alimento desde el punto de vista biológico.

Estudios realizados por nuestro grupo de investigación en un modelo animal, sugieren que el consumo de la tortilla tiene impacto positivo en el hipocampo, al incrementar el área nuclear de las neuronas y el tamaño de este tejido. Al saber que es una zona del cerebro con funciones muy importantes y en especial el giro dentado del hipocampo, el cual podría estar relacionado con trastornos como lo es el autismo se plantea la necesidad de realizar un estudio que aporte información acerca de la aplicación de las microondas en combinación con la adición de ácidos orgánicos durante el proceso de nixtamalización en el contenido de antocianinas de la tortilla y el impacto de su ingesta en el hipocampo de ratas Wistar.

6. OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

Evaluar el efecto biológico de la tortilla de maíz azul adicionada con ácidos orgánicos y procesado por microondas sobre el desarrollo del hipocampo de la rata Wistar.

6.2 Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de la adición de ácidos orgánicos en el proceso de nixtamalización tradicional y con microondas en el contenido de compuestos bioactivos de la tortilla de azul.
- Evaluar el efecto de ácidos gálico y procesamiento con microondas en el sabor, textura y color de las tortillas mediante una prueba sensorial.
- Evaluar el efecto de la tortilla adicionada con ácido gálico y procesada por microondas sobre parámetros reproductivos en ratas.
- Determinar el efecto de la ingesta de tortilla azul procesada en forma tradicional y con microondas con y sin adición de ácido gálico sobre el desarrollo de la zona del giro dentado del hipocampo de ratas Wistar en la etapa fetal.

7. HIPÓTESIS

La adición de ácidos orgánicos y el procesamiento por microondas en la nixtamalización, mantiene en mayor grado los componentes bioactivos en la tortilla de maíz azul lo cual impacta de manera positiva en su biofuncionalidad.

8. MATERIALES Y MÉTODOS

8.1 Materia prima

Los granos de maíz azul CIIDIR-125 fueron colectados en abril del 2016 en el municipio de Chacaltengo de Hidalgo de la Mixteca Oaxaqueña, con una altitud de 2440m, latitud 170210m y longitud 973.513m. Su nombre local es: nuñi lee.

8.2 Nixtamalización tradicional del grano de maíz azul

Para la nixtamalización del grano de maíz azul se empleó una concentración de hidróxido de calcio de 1.0%. El tiempo de nixtamalización fué de 35 minutos. Después de un reposo de 16 h, el nixtamal se enjuagó tres veces con 1 L cada vez de agua purificada. Una vez nixtamalizado, se añadieron 40 mL de agua purificada por 200 g de maíz para obtener una masa fresca y después molerse en un molino manual (Alarcón *et al.*, 2013).

8.3 Nixtamalización con microondas y adicionada con ácido orgánico del grano de maíz azul

El grano de maíz azul previamente remojado en una solución de ácido gálico ó cítrico al 1.0% se nixtamalizó con hidróxido de calcio al 1.0% en un horno de microondas doméstico (Marca Panasonic, Modelo NN-SA968W con 10 niveles de potencia y 1200 watts) operando a una frecuencia de 2450 MHz. La potencia de salida empleada en el tratamiento de las muestras fue de 682 watts calculada de acuerdo a la técnica de Buffler (1993). La energía aplicada (ϵ) expresada en KJ/g,

que se aplicó con las microondas (Ortiz *et al.*, 2003) en los diferentes tratamientos se calculó con la siguiente ecuación:

$$E = Pt/m$$

Donde:

P = potencia de las microondas (watts)

t = tiempo de exposición expresada (s)

m = masa de las muestras (g)

Siendo la energía aplicada 5.55 KJ/g. Después de un reposo de 16 h, el nixtamal se enjuagó tres veces con 1 L de agua purificada. La masa se prepara de acuerdo al inciso 8.2.

8.4 Elaboración de la tortilla a partir de maíz azul

Para la elaboración de cada tortilla se empleó una prensa doméstica. Para obtener tortillas con espesor de 1 ± 0.5 mm, 12 ± 0.5 cm de diámetro y 17.5 ± 0.5 g de peso. Los discos de masa fueron cocidos al calor de una plancha a $240 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 35 s por el lado A, seguido de 65 s en lado B, y 30 s nuevamente por el lado A. Las tortillas se evaluaron después de enfriar durante 30 minutos a temperatura ambiente (modificado de Alarcon *et al.*, 2013). Las tortillas para la administración del modelo animal, fueron conservadas en refrigeración a 4°C y antes del suministro se dejaron reposar en temperatura ambiente durante 15 minutos.

8.5 Elaboración del extracto de tortilla de maíz azul

Se pesó 1 g de tortilla respectivamente, se adicionaron 10 mL de etanol acidificado con ácido cítrico 1M (85:15 v:v) para su extracción, se utilizó un homogeneizador ultrasónico a una frecuencia de 20 kHz y una potencia 750 W (Cole-Palmer Instrumental Company, VCX-750, E.E.U.U.) con una punta de 13 mm de diámetro a una amplitud de 40%. Posteriormente, los extractos se dejaron

en reposo de 24 h a una temperatura de 4 °C, seguido de centrifugación a 4000 rpm por 20 minutos a una temperatura de 5 °C. Los extractos de etanol acidificado con ácido cítrico 1 M (85:15 v: v) se obtuvieron por triplicado para cada muestra, (Alarcon-Zavala *et al.*, 2011).

8.6 Cuantificación de polifenoles totales

Para cuantificar el contenido de polifenoles totales se utilizó la técnica de Folin y Ciocalteu, (1927). Se preparó una curva de calibración utilizando ácido gálico (12 mg/100 mL) y se expresó como mg equivalentes de ácido gálico (EAG) por 100 g de muestra. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

8.7 Análisis de antocianinas monoméricas

El contenido de antocianinas monoméricas fue evaluado usando el método diferencial de pH diferencial reportado por Giusti and Wrolstad (2001). En el cual se requirió de un buffer de cloruro de potasio a pH 1.0, y otro de acetato de sodio a pH 4.5. Las muestras se dejaron en reposo por 15 minutos y se llevó a cabo la determinación de la absorbancia en un espectrofotómetro de barrido ultravioleta/visible entre 420 y 700 nm. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

El contenido de antocianinas monoméricas se expresó como mg de cianidin 3-glucósido/100 g, se utilizó el coeficiente de extinción molar de 26,900 L cm¹ mg¹ y un peso molecular de 449.2 g/mol.

8.8 Actividad antioxidante por DPPH

El método utilizado fue el reportado por Brand-Williams (1995), utilizando como referencia trolox para lo cual se construyó una curva estándar con concentración de 0 a 800 μM de trolox. A 0.1 mL de cada extracto se adicionaron a 2.9 mL del reactivo DPPH, la mezcla se agitó vigorosamente y se mantuvo en oscuridad por 30 min a temperatura ambiente. La absorbancia se registró a 517 nm.

8.9 Prueba sensorial “bench top”

Con la finalidad de evaluar el nivel de agrado de las tortillas con y sin ácidos orgánicos se realizó una prueba hedónica de 7 puntos con 22 jueces no entrenados quienes evaluaron el color, sabor y textura. Los parámetros de evaluación van desde me gusta mucho hasta me disgusta mucho. (Anexo 1)(Pedrero y Pangborn, 1989).

8.10 Prueba biológica

8.10.1 Modelo animal

Se utilizaron ratas hembras de la cepa Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), recién destetadas, las cuales fueron obtenidas del bioterio del Instituto de Neuroetología de la Universidad Veracruzana, Xalapa, Ver. Los animales se alojaron individualmente en cajas, con ciclos de luz/oscuridad de 12/12h y a temperatura ambiente de 25 °C. Los animales fueron alimentados con una dieta estándar (Nutricubos de purina, Sagarpa A-0207-246) la cual contiene: 23% proteína, 3%grasa, 6% de fibra, 1% calcio y 0.60% de fósforo (sin contenido de ácido gálico) y agua *ad libitum*. Una vez alcanzada su madurez sexual aproximadamente el día postnatal 60, se procedió a dar seguimiento de su ciclo estral (proestro,estro,metadiestro y diestro) se seleccionó a las hembras con ciclo normal, para poder llevar a cabo el apareamiento, el cual se realizó con machos expertos. Las hembras fueron pesadas durante su periodo de preñez en los días

0 y 20 de gestación. El peso ganado de la hembra en su periodo de gestación se obtuvo a partir de la siguiente formula:

$$\text{Peso ganado} = (\text{peso 20} - \text{peso 0}) - \text{Peso F}$$

Donde :

Peso 20= peso de la hembra el día 20 de gestación

Peso 0= peso de la hembra el día 0 de gestación

Peso F = peso total de los fetos

Los grupos se clasificaron de la manera siguiente (Figura 8): al grupo I se le suministró una dieta estándar (control) y agua *ad libitum*; grupos experimentales: el grupo II fue alimentado con dieta estándar y la administración de tortilla nixtamalizada tradicional sin ácido gálico (TNT SA). Al grupo III experimental se le proporcionó una dieta estándar y la tortilla nixtamalizada tradicional adicionada con ácido gálico (TNT CA). El grupo IV fue administrado con una dieta estándar más la tortilla nixtamalizada por microondas sin ácido gálico (TNM SA). El grupo V fue alimentado con dieta estándar más la tortilla nixtamalizada por microondas y adicionada con ácido gálico (TNM CA). En todos los grupos el suministro de tortilla fue el equivalente al 1% del peso de la rata aproximadamente, que corresponde a 35 tortillas/día en humanos. Los niveles de ingesta de tortillas fueron seleccionados con base a estudios previos realizados por el grupo de investigación (Zamora *et al.* 2015).

En los grupos experimentales en los que se administró la tortilla, una semana antes del apareamiento se dio inicio a la alimentación con el consumo de tortilla de maíz azul en la hembra experimental hasta el día 20 de gestación. Los fetos utilizados se obtuvieron de 6 camadas promedio por grupo experimental, las cuales contenían 6 a 8 individuos por camada. De cada camada se seleccionó 1 macho para realizar el estudio, obteniendo un total de 30 fetos; los cuales se repartieron en 5 grupos: 1 grupo control y 4 experimentales, con n= 6 en cada uno.

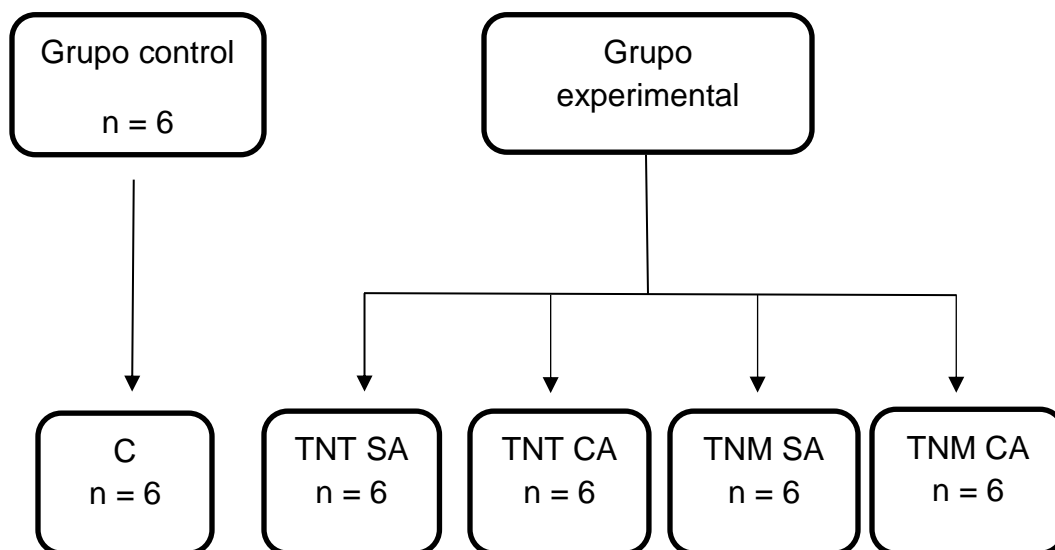


Figura 8. Grupos experimentales: Grupo I, control (C) administrado con dieta estándar y agua ad libitum; grupo II, alimentado con dieta estándar más tortilla nixtamalizada por el método tradicional sin ácidogálico (TNT SA), grupo III (TNT CA) alimentado con una dieta estándar más tortilla nixtamalizada por el método tradicional adicionada con ácido gálico, grupo IV (TNM SA) administrado con una dieta estándar más tortilla nixtamalizada por microondas sin ácido gálico, grupo V (TNM CA) administrado con una dieta estándar más tortilla nixtamalizada con microondas y adicionada con ácido gálico.

8.10.2 Extracción del material biológico

Al término de los 20 días de gestación de la rata, se obtuvo el peso de la madre utilizando una báscula (Q-weigh YS202) y se realizó la eutanasia con 2ml de sofloran vet (anestésico inhalatorio) para extraer el material biológico a través de una cesárea. A cada uno de los fetos obtenidos se le determinó el peso en gramos y el sexo. Para el estudio se seleccionó un macho con peso promedio de cada camada.

8.10.3 Fijación del cerebro

Los fetos seleccionados fueron decapitados y la cabeza de cada uno fue colocada por inmersión en una solución de formaldeído fosfatado (100mL formaldehído 37%, 900mL agua destilada, 4.0 gramos de fosfato de sodio monobásico monohidratado y 6.5 gramos fosfato de sodio dibásico dihidratado mantenida un mínimo de 20 días en el fijador (Manes *et al.*, 1964).

8.10.4 Deshidratación e inclusión en parafina

El cerebro ya fijado se lavó para quitar el exceso de fijador y se deshidrató utilizando alcoholes en diferentes concentraciones sumergidos a temperatura ambiente tal como se señala a continuación:

Alcohol de 70%, con un cambio de 1 hora.

Alcohol de 80%, con un cambio de 1 hora.

Alcohol de 85%, con un cambio de 1 hora.

Alcohol de 90%, un cambio de 1 hora.

Alcohol de 96%, un cambio de 24 horas.

Alcohol absoluto un cambio de 1 hora.

Alcohol absoluto y cloroformo (50/50%) 15 min.

Cloroformo dos cambios cada 15 minutos.

Parafina bajo grado de fusión un cambio de 24 o 48 horas (modificado de Garrido, 2016). El cerebro se incluyó en parafina por 12 h. Posteriormente se vertió en moldes de histokinette para obtener los bloques de parafina.

8.10.5 Cortes del bloque

Cada bloque se cortó en el micrótopo (Leika mod 820) a 10 micras. Los cortes se colocaron en portaobjetos por flotación en solución de gelatina (Sigma Lot 40K0920) hasta el secado total, dejando listo cada uno para la tinción.

8.10.6 Tinción de Nissl

Los cortes se colocaron en el set de tinción y llevó el siguiente orden:

Xilol 1 -----3 minutos.

Xilol 2 -----3 minutos.

Alcohol 80%-----3 minutos.

Alcohol 96 %-----3 minutos.

Agua destilada-----2 minutos

Cresil violeta-----12 minutos

Alcohol 80%-----3 minutos.

Alcohol 96%-----3 minutos.

Alcohol absoluto-----5 minutos.

Xilol y alcohol absoluto (50/50) -----4 minutos.

Xilol final -----3 minutos.

Se les colocó Permount (Fisher Lote 046299), para poder colocar el cubre objeto y dejarlo secar a temperatura ambiente.

8.10.7 conteo celular y Tamaño de las células

Se seleccionó el corte del hipocampo en el plano coronal 11 (Altman y Bayer), tomando en cuenta las siguientes estructuras: amígdala vaso lateral posterior (BLP), amígdala basomedial anterior (BMA), amígdala basomedial posterior (BMP), entopeduncular (EP), amígdala medial postero dorsal (MePD), división amigdaloides (STIA), dorso ventromedial (VMHDM), ventromedial ventrolateral (VMHVL)(Figura 9) (Paxinos y Ashwell, 2008), y se localizó la zona del giro dentado Las fotomicrografías fueron

tomadas con un microscopio (marca Leica modelo DM750) equipado con una cámara (Infinity 1-5C marca Lumera) utilizando el software “INFINITY CAPTURE” (versión 6.5.2) con el objetivo 40x, el conteo y el área se realizó en el programa “ImageJ” (versión 1.51h), se determinó el número de células y el área del giro dentado del hemisferio izquierdo. Con los valores se obtuvo la densidad mediante el número de células por unidad de área (células/mm²) (Araya *et al.*, 2012).

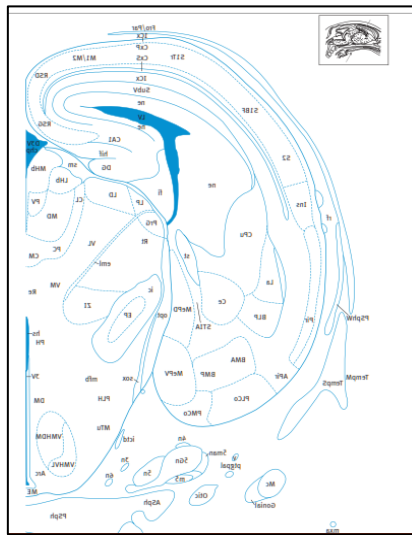


Figura 9. Corte coronal del cerebro (Ashwell y Paxinos, 2008).

8.10.8 Análisis estadístico

Para la evaluación de análisis químicos (polifenoles totales, antocianinas monomérica y actividad antioxidante) y los datos de la prueba biológica (parámetros reproductivos, conteo celular y tamaño celular), se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía y posteriormente se evaluaron las diferencias significativas mediante la prueba de Tukey con un nivel de significancia $p \leq 0.05$, utilizando el programa IBM SPSS Statistics, Versión 23.

9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

9.1 Análisis químicos

9.1.1 Determinación de polifenoles totales y antocianinas monoméricas en la tortilla nixtamalizada adicionada con y sin ácido cítrico

Con la finalidad de establecer las condiciones de nixtamalización con microondas, se realizaron estudios previos al interior del grupo de investigación que mostraron que a una radiación de 682 watts hay una adecuada nixtamalización en donde se puede hacer una remoción del pericarpio, por el cual se seleccionó para el proceso de nixtamalización.

En la Figura 10 se muestran las tortillas sometidas a los diferentes procesos de nixtamalización y adicionada con ácido cítrico en las cuales se analizó la cantidad de polifenoles totales (Figura 11) y antocianinas (Figura 12).

En cuanto a la cantidad de polifenoles todos los tratamientos de tortilla mostraron diferencias; los datos se muestran de menor a mayor: TNT SA (278.33 ± 0.00) < TNT CA (329.53 ± 0.01) < TNM SA (357.68 ± 0.01) < TNM CA (369.16 ± 0.04). En los resultados de las cantidades de antocianinas, TNM SA (52.28 ± 2.04) incremento en comparación con TNT SA (33.6 ± 3.15) ($P = 0.001$) y TNT CA (42.47 ± 0.68) ($P=0.039$) notando un aumento del 57 % y 23 % respectivamente. Por otra parte TNM CA (56.98 ± 1.53) incremento en comparación con TNT SA ($P = 0.001$) y TNT CA ($P=0.005$); de acuerdo a estos resultados la TNM CA aumento un 33 % en polifenoles ($P= 0.001$) y un 69 % en antocianinas comparada con TNT SA; lo cual indica que hay una protección de la antocianina con este ácido, como lo reportado por Li *et al.*, (2010), quienes mostraron que en un corto tiempo y a una baja temperatura, el ácido cítrico proporcionó mayor retención en antocianinas en galletas elaboradas de maíz azul. Al considerar entre los cuatro procesos de nixtamalización, la mayor retención de los compuestos bioactivos, tanto de polifenoles como de antocianinas, se observó en la TNM CA lo cual sugiere que la aplicación de las microondas en el proceso de nixtamalización y la adición de ácido cítrico mantiene en mayor grado estos compuestos.

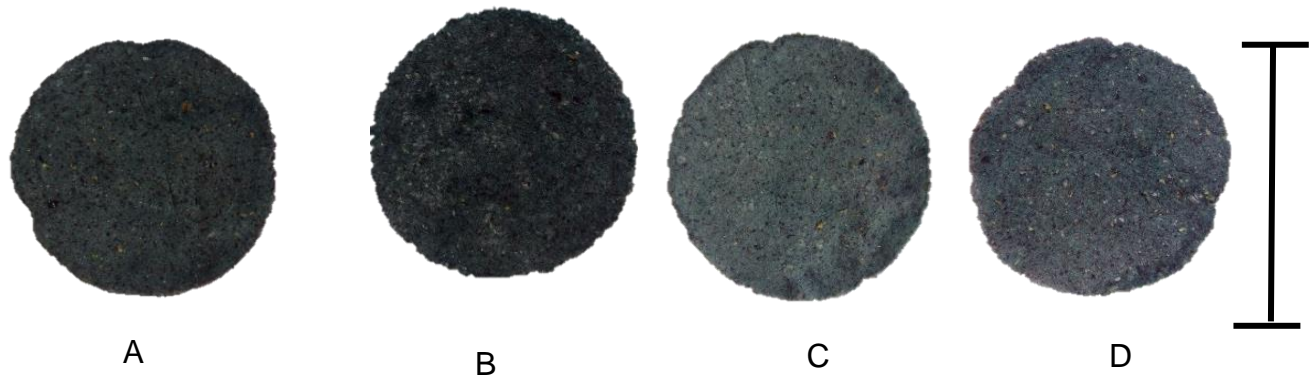


Figura 10. Tortilla de maíz azul en los diferentes procesos de nixtamalización con o sin ácido cítrico: A) Tradicional con ácido, B) Tradicional sin ácido, C) Microondas con ácido, D) Microondas sin ácido. Escala: 12 ± 0.5 cm de diámetro.

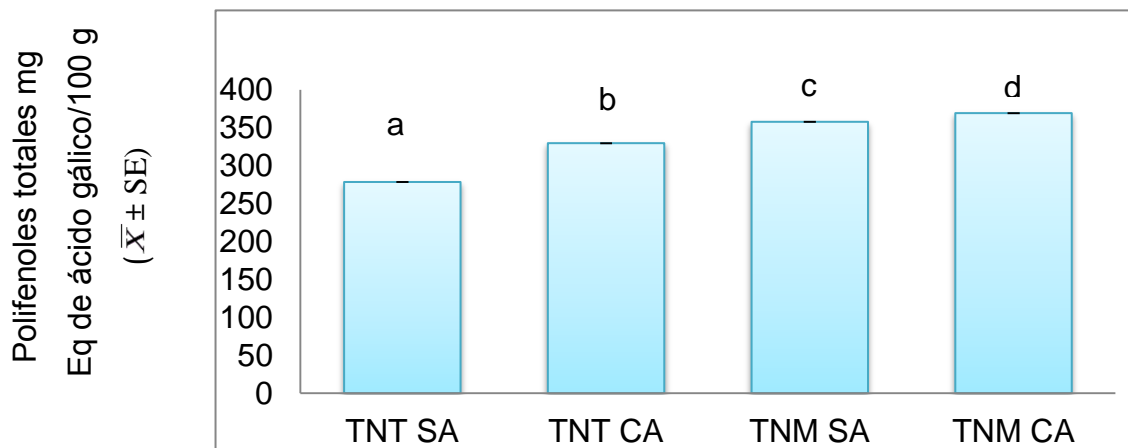


Figura 11. Contenido de polifenoles en la tortilla nixtamalizada con y sin ácido cítrico: TNT SA (tortilla nixtamalizada tradicional sin ácido), TNT CA (tortilla nixtamalizada tradicional con ácido), TNM SA (tortilla nixtamalizada por microondas sin ácido), TNM CA (tortilla nixtamalizada por microondas con ácido). Letras diferentes en la misma grafica muestra diferencias significativas ($P \leq 0.05$). Los valores se dan como: media \pm SE, $n = 3$.

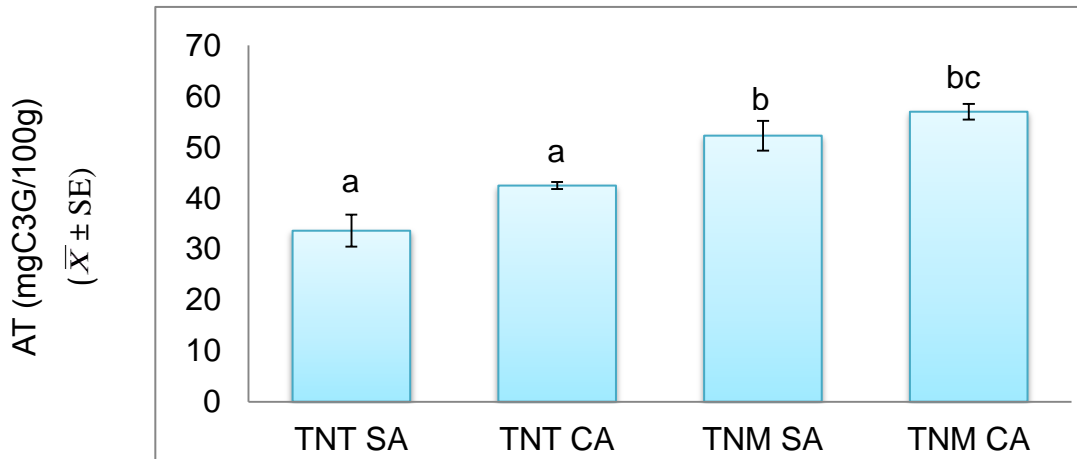


Figura 12. Contenido de antocianinas en la tortilla nixtamalizada con y sin ácido cítrico: TNT SA (tortilla nixtamalizada tradicional sin ácido), TNT CA (tortilla nixtamalizada tradicional con ácido), TNM SA (tortilla nixtamalizada por microondas sin ácido), TNM CA (tortilla nixtamalizada por microondas con ácido). Letras diferentes en la misma grafica muestra diferencias significativas ($P \leq 0.05$). Los valores se dan como: media \pm SE, $n = 3$.

9.1.2 Determinación de la actividad antioxidante en la tortilla nixtamalizada con y sin ácido cítrico

Se analizó la actividad antioxidante en los cuatro procesos de nixtamalización, como se muestra en la Figura 13, todos los grupos mostraron diferencias, los datos se muestran de menor a mayor: TNT SA (49.64 ± 0.02) < TNT CA (52.28 ± 0.03) < TNM SA (52.86 ± 0.03) < TNM CA (53.8 ± 0.04) obteniendo una $P = 0.001$. De todos los procesos la TNM CA fue la que mayor actividad antioxidante presento con un incremento del 8% en comparación con la TNT SA. Al respecto, la actividad antioxidante de la tortilla nixtamalizada en forma tradicional fue similar al reportado para la tortilla de maíz azul Mixteco por Hernández (2015). De igual manera, se puede observar que las tortillas azules obtenidas de granos de maíz azul sometidos a los diversos procesos de nixtamalización tuvieron valores similares.

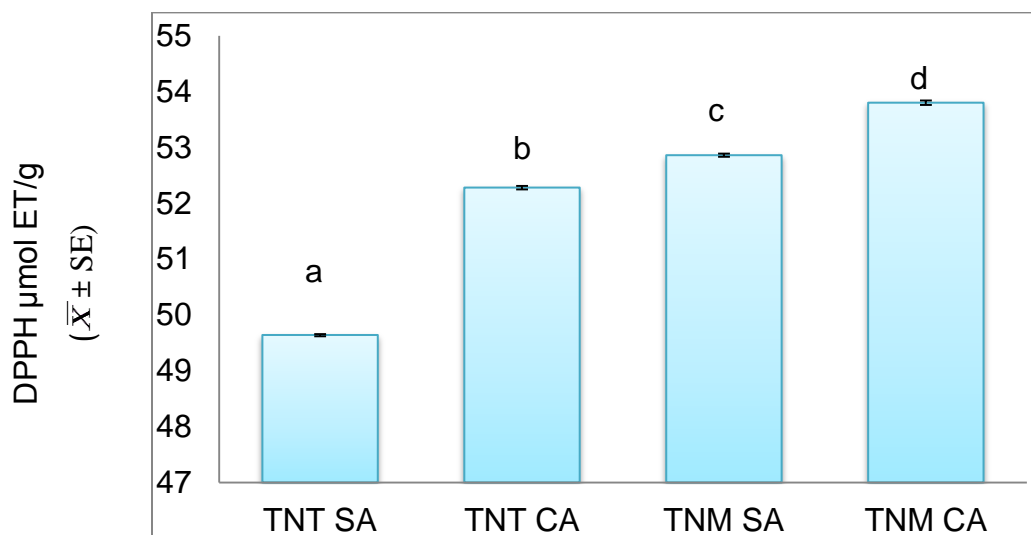


Figura 13. Actividad antioxidante en la tortilla nixtamalizada con y sin ácido cítrico: TNT SA (tortilla nixtamalizada tradicional sin ácido), TNT CA (tortilla nixtamalizada tradicional con ácido), TNM SA (tortilla nixtamalizada por microondas sin ácido), TNM CA (tortilla nixtamalizada por microondas con ácido). Letras diferentes en la misma grafica muestra diferencias significativas ($P \leq 0.05$). Los valores se dan como: media \pm SE, $n = 3$.

9.1.3 Determinación de polifenoles totales y antocianinas monoméricas en la tortilla azul nixtamalizada adicionada con y sin ácido gálico

En la Figura 14 se muestran las tortillas sometidas a los diferentes procesos de nixtamalización y adicionada con ácido gálico en las cuales se analizó la cantidad de polifenoles totales (Figura 15) y antocianinas (Figura 16). En cuanto a polifenoles todos los grupos presentaron diferencias, los datos se muestran de menor a mayor: TNT SA (333.64 ± 0.04) < TNT CA (399.47 ± 0.01) < TNM SA (450.31 ± 0.04) < TNM CA (479.79 ± 0.06) con una $P = 0.001$, los resultados muestran que el grupo TNM CA retiene mayor cantidad de polifenoles de los cuatro grupos con un incremento del 43 % en comparación a la TNT SA. En los parámetros de antocianinas el grupo TNT CA (49.57 ± 0.15) tuvo un incremento del 19 % ($P=0.001$) en comparación a TNT SA (33.6 ± 3.15), además

el grupo TNM SA (53.05 ± 0.82) aumento un 60 % ($P = 0.001$) en comparación al TNT SA. El grupo TNM CA (61.02 ± 1.05) tuvo el mayor incremento de antocianinas de los cuatros procesos con un incremento del 80% ($P = 0.001$) comparada con TNT SA .Lo anterior coincide con lo reportado por Roudoing *et al.* (2016), quienes adicionaron el ácido gálico para la prevención de la degradación de antocianinas en jugo de arándano fortificado con vitamina C, obteniendo una menor degradación debido a la protección que genera el ácido gálico. Entre los métodos de nixtamalización empleados en el presente estudio, la tortilla elaborada con granos por el proceso de nixtamalización con microondas adicionado con ácido gálico tuvo la mayor retención de compuestos bioactivos: tanto de polifenoles como antocianinas.

Conociendo la importancia del maíz en nuestra alimentación y siendo un alimento básico resulta fundamental saber que la recomendación de ingesta diaria de antocianinas es de 2.5 mg/kg/día (Clifford. 2000) y de polifenoles 1 g/día (Scalbert y Williamson, 2000) y de acuerdo al consumo promedio de tortillas (7/día), una persona diariamente está recibiendo 47 mg de antocianinas y 466 mg de polifenoles en la nixtamalización tradicional. Sin embargo, al suministrar la tortilla nixtamalizada por microondas adicionada con ácido gálico se está aportando 85 mg de antocianinas y 670 mg de polifenoles observando un incremento importante en la ingesta.

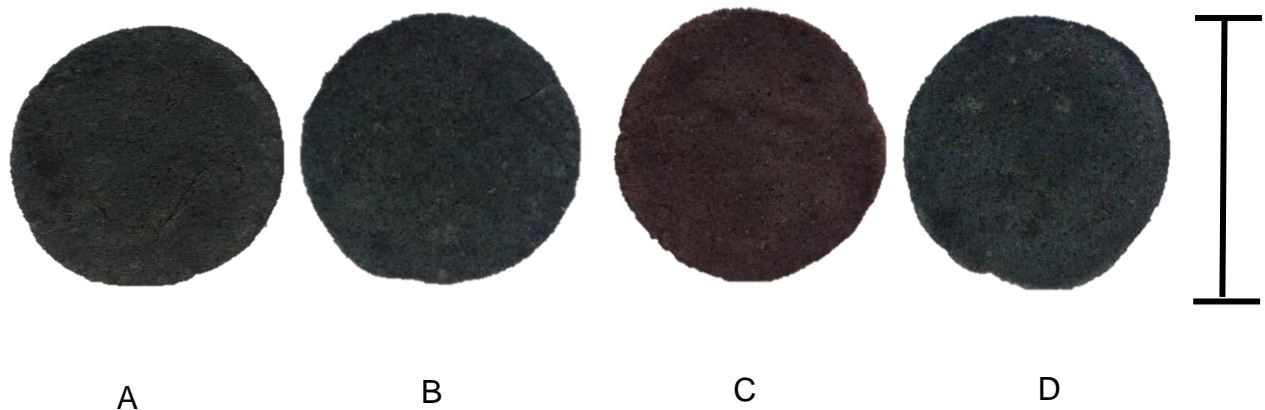


Figura 14. Tortilla de maíz azul en los diferentes procesos de nixtamalización con o sin ácido gálico: A) Tradicional con ácido, B) Tradicional sin ácido, C) Microondas con ácido, D) Microondas sin ácido. Escala: 12 ± 0.5 cm de diámetro

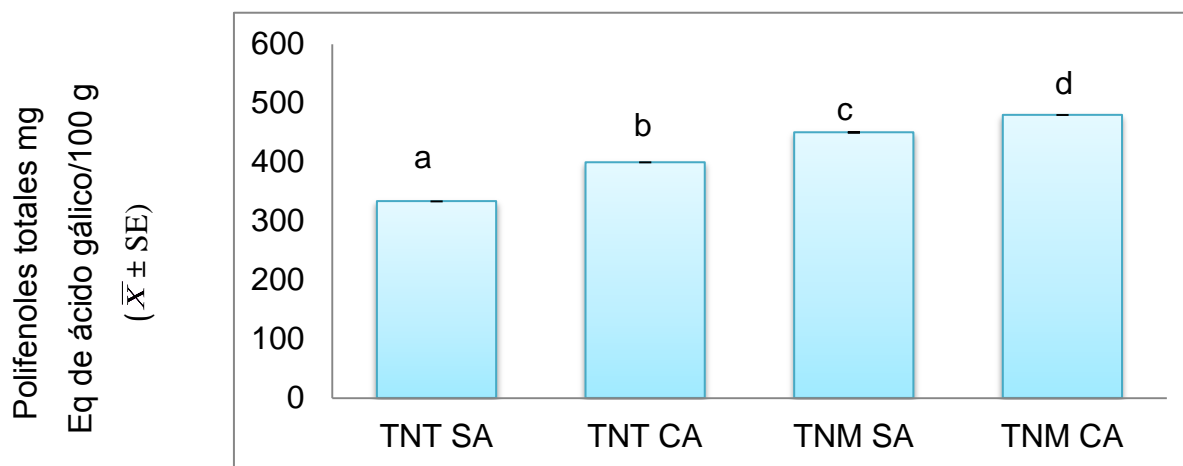


Figura 15. Contenido de polifenoles totales en la tortilla nixtamalizada con y sin ácido gálico: TNT SA (tortilla nixtamalizada tradicional sin ácido), TNT CA (tortilla nixtamalizada tradicional con ácido), TNM SA (tortilla nixtamalizada por microondas sin ácido), TNM CA (tortilla nixtamalizada por microondas con ácido). Letras diferentes en la misma grafica muestra diferencias significativas ($P \leq 0.05$). Los valores se dan como: media \pm SE, $n = 3$.

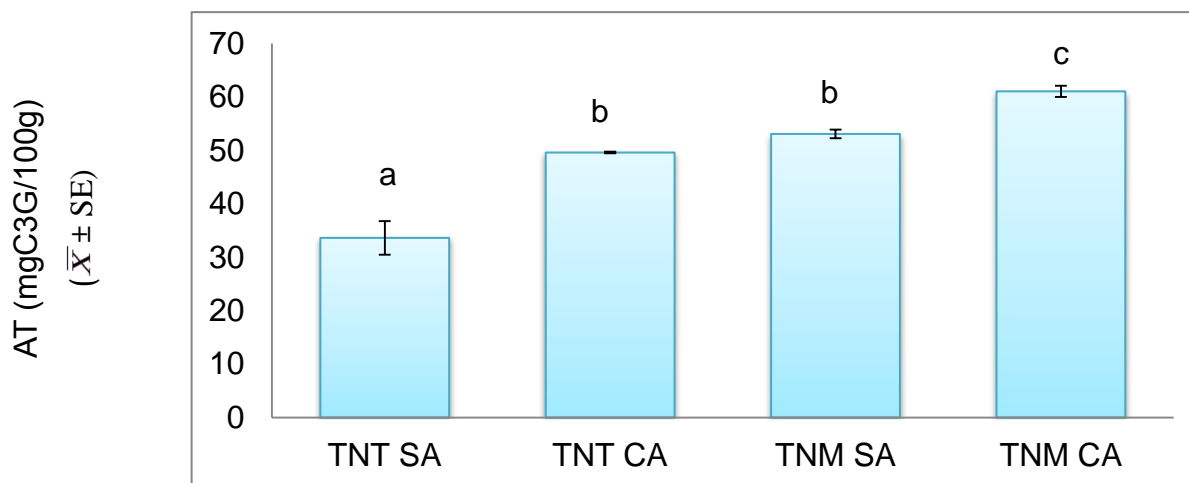


Figura 16. Contenido de antocianinas en la tortilla nixtamalizada con y sin ácido gálico: TNT SA (tortilla nixtamalizada tradicional sin ácido), TNT CA (tortilla nixtamalizada tradicional con ácido), TNM SA (tortilla nixtamalizada por microondas sin ácido), TNM CA (tortilla nixtamalizada por microondas con ácido). Letras diferentes en la misma grafica muestra diferencias significativas ($P \leq 0.05$). Los valores se dan como: media \pm SE, $n = 3$.

9.1.4 Actividad antioxidante en la tortilla azul nixtamalizada con y sin ácido gálico

La actividad antioxidante fue evaluada en las tortillas obtenidas de los cuatro procesos de nixtamalización como se muestra en el Figura 17, en donde se obtuvo diferencia en todos los grupos siendo TNM CA (125.89 ± 0.10) el que mayor actividad antioxidante presento con un 54% ($P = 0.001$) en comparación a la TNT SA (81.77 ± 0.02). Por otra parte, el grupo TNT CA (115.72 ± 0.23) incremento un 40 % ($P = 0.001$) en comparación a la TNT SA, y el grupo TNM SA (92.48 ± 0.17) incremento un 13 % en comparación al TNT SA. Estos datos indican que el ácido gálico y el uso de microondas favorecen al tratamiento de nixtamalización teniendo como resultado, menor perdida de antocianinas que es componente bioactivo del maíz azul.

En suma, de acuerdo con los resultados de los análisis químicos, la tortilla elaborada a partir de granos de maíz azul sometidos al proceso de nixtamalización por microondas y adicionado con ácido gálico fue quien obtuvo la mayor retención de los compuestos bioactivos de la tortilla de maíz azul.

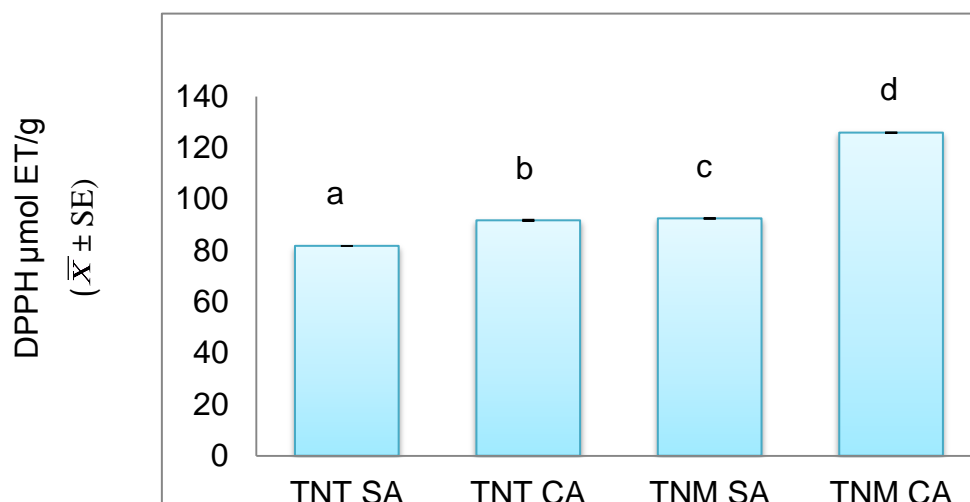


Figura 17. Actividad antioxidante en la tortilla nixtamalizada con y sin ácido gálico: TNT SA (tortilla nixtamalizada tradicional sin ácido), TNT CA (tortilla nixtamalizada tradicional con ácido), TNM SA (tortilla nixtamalizada por microondas sin ácido), TNM CA (tortilla nixtamalizada por microondas con ácido). Letras diferentes en la misma grafica muestra diferencias significativas ($P \leq 0.05$). Los valores se dan como: media \pm SE, $n = 3$.

9.2 Prueba sensorial

Un aspecto importante que se debe considerar en la modificación del proceso de elaboración de un alimento es su impacto en la calidad sensorial, por lo que en el presente trabajo de investigación se evaluó el color, sabor y textura (Figura 18) de las tortillas elaboradas a partir de granos de maíz azul sometidos a los diferentes procesos de nixtamalización en donde el ácido empleado fue el ácido gálico debido a que fueron las tortillas en las que tuvieron el mayor contenido de compuestos bioactivos. En cuanto al sabor, los jueces calificaron con

mayor nivel de agrado (65%) como “me gusta moderadamente” la tortilla elaborada con granos sometidos al proceso de nixtamalización por microondas adicionada con ácido. Por otro lado, la nixtamalización con microondas sin ácido presentó un menor agrado al ser calificada como me gusta levemente.

En cuanto al color, los panelistas indicaron un mayor nivel de agrado (48%) por la tortilla obtenida de granos nixtamalizados por microondas sin ácido seguido de la tortilla elaborada de granos nixtamalizados en forma tradicional sin ácido, y teniendo un menor agrado por la tortilla obtenida de granos nixtamalizados con microondas con ácido.

Con respecto a la textura de las tortillas, los jueces mencionaron tener mayor agrado (73%) por la tortilla elaborada con granos nixtamalizados en forma tradicional sin ácido siendo calificada como “me gusta mucho”, seguido de la tortilla obtenida de granos nixtamalizados en forma tradicional sin adición de ácido gálico siendo calificadas como “me gusta moderadamente”. Por otra parte, la tortilla elaborada de granos nixtamalizados utilizado microondas y sin adición de ácido gálico fue del menor agrado al ser calificada por los panelistas como “me gusta levemente”.

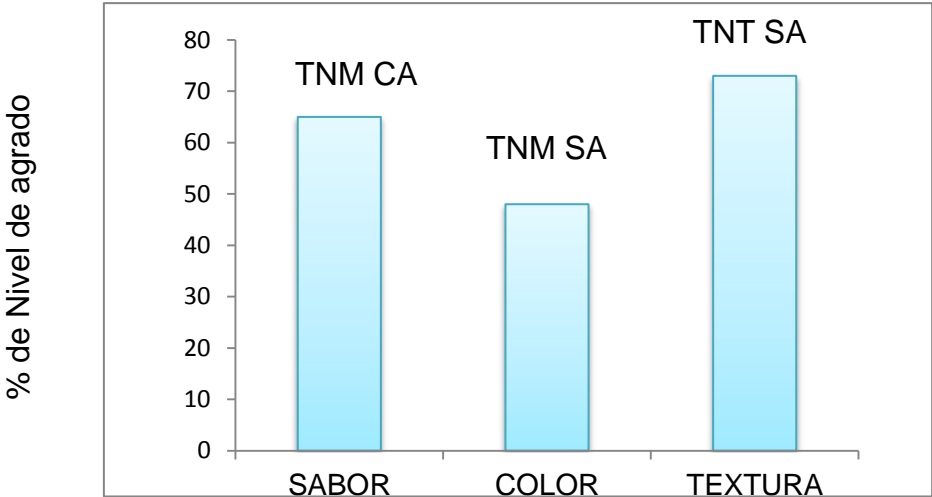


Figura 18. Parámetros con mayor nivel de agrado de la prueba sensorial: TNT SA (tortilla nixtamalizada tradicional sin ácido gálico), TNM SA (tortilla nixtamalizada por microondas sin ácido gálico), TNM CA (Tortilla nixtamalizada por microondas con ácido gálico).

9.3 Efecto de la administración de la tortilla nixtamalizada tradicional con y sin ácido gálico en el modelo animal

9.3.1. Peso corporal de las hembras alimentadas con tortillas por nixtamalización tradicional con y sin ácido gálico durante la gestación

Al analizar el peso corporal de las hembras ganado durante la gestación (Figura 19) se encontró en el control el valor de 53.39 ± 13.42 g; en el grupo TNT SA 45.62 ± 15.09 g y en el TNT CA 53.62 ± 22.97 g. Se observó que no hay diferencias significativas entre grupos, obteniendo los siguientes resultados: control vs TNT SA ($P = 0.421$), control vs TNT CA ($P = 0.980$) y TNT SA vs TNT CA ($P = 0.407$), posiblemente el no presentar ganancia de peso más allá de los parámetros normales, se deba a que las antocianinas previenen la obesidad, dislipidemias e inflamación de la grasa visceral (Tsuda *et al.*, 2003). Por lo tanto, se podría decir que el consumo de tortilla de maíz azul, no causa un exceso de peso. Estos datos coinciden con lo reportado por Zamora-Contreras *et al.* (2015) en donde se llevó a cabo un estudio sobre síndrome metabólico, en el cual se suministró el equivalente a 35 tortillas de maíz azul de la raza mixteco/día en ratas adulto, sin mostrar ganancia de peso con respecto al control.

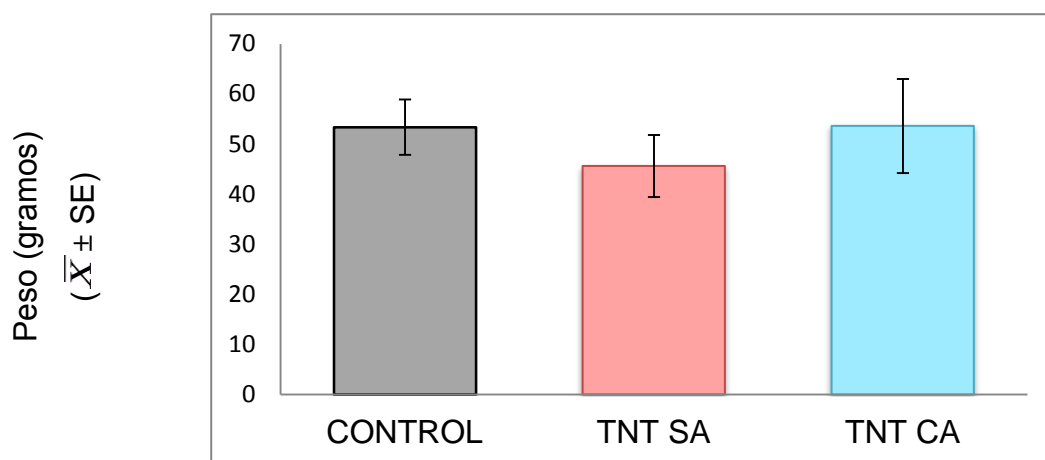


Figura 19. Peso corporal de la hembra ganado durante la gestación del modelo tradicional: TNT SA (tortilla nixtamalizada tradicional sin gálico), TNT CA (tortilla nixtamalizada tradicional con ácido gálico). Sin diferencia estadística entre los grupos ($P \leq 0.05$). Los valores se dan como: media \pm SE, n=6.

9.3.2. Número de fetos por hembra gestante de la tortilla nixtamalizada tradicional con y sin ácido gálico

Se evaluó el total de fetos por hembra gestante (Figura 20) y se encontró en el control 9.28 ± 0.95 fetos; en el grupo TNT SA 5.71 ± 2.81 fetos y en la TNT CA 7.42 ± 3.86 fetos, obteniendo una disminución significativa del grupo de TNT SA comparada con el control ($P = 0.0289$). Además, se observó que predominó las camadas promedio en el grupo control y en la TNT CA, a diferencia de la TNT SA en que predominaron las camadas pequeñas; esta clasificación está basada en lo descrito por Bautista *et al.*, (2009) en donde las camadas pequeñas van de ≤ 6 , las camadas promedio de ≥ 7 y las camadas grandes de ≥ 11 . Esta interacción del ácido en la retención de antocianinas en el grupo TNT CA comparado con TNT SA puede estar relacionado con el aumento de fetos, como lo reporta Nanashima *et al.* (2015), en donde indica que las antocianinas de la grosella negra tienen actividad fitoestrogénica mediante la señalización ER α (receptores de estrógeno),

de igual manera, se menciona la posibilidad que en un largo periodo con el tratamiento de ese extracto se pueden tener efectos en el útero o en las glándulas mamarias en pruebas *in vivo*. Por otra parte, hay una disminución en el número de fetos en la TNT SA comparada con control, la cual puede ser, debido a que en la nixtamalización tradicional se presenta una mayor degradación de antocianinas por las condiciones que las afectan, como se mencionó anteriormente.

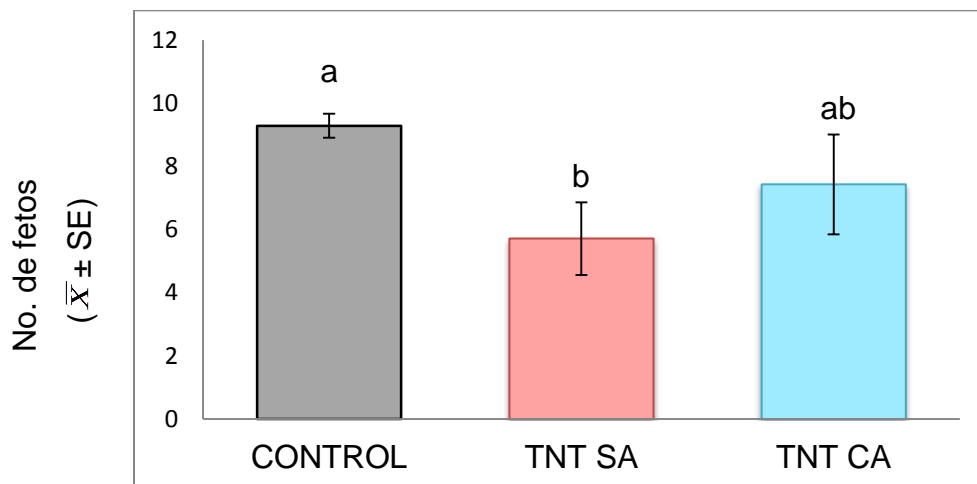


Figura 20. Promedio total de fetos por hembra preñada del modelo tradicional: TNT SA (tortilla nixtamalizada tradicional sin ácido gálico), TNT CA (tortilla nixtamalizada tradicional con ácido gálico). TNT SA vs control ($P \leq 0.05$). Los valores se dan como: media \pm SE, $n=6$.

9.3.3. Peso de los fetos de la tortilla nixtamalizada tradicional con y sin ácido gálico

Se analizó el promedio del peso en fetos (Figura 21) y se encontró en el control un promedio de 3.74 ± 4.06 g; en el grupo TNT SA: 3.17 ± 8.34 g y en el TNT CA 2.98 ± 12.0 g embriones por grupo. Se obtuvo una disminución significativa entre TNT SA comparada con el control ($P = 0.0023$) y también entre la TNT CA con el control ($P = 0.0139$), lo cual, indica que el peso de los fetos de las ratas tratadas mantuvieron un peso más bajo en comparación con el control, posiblemente coincida con lo mencionado anteriormente ya que las antocianinas

producen una disminución en la acumulación de lípidos, esto coincide con lo reportado por Carretero (2016) en donde la ingesta de 35 tortillas/día de maíz azul de raza mixteco, en ratas Wistar adulto no mostró una ganancia de peso con respecto al control. Estos datos de peso corporal son importantes, debido a que se ha propuesto que en un ambiente en condiciones adversas, una cría con menor peso corporal enfrenta desventajas en la competencia por la sobrevivencia. Aunque, los datos de bajo peso aquí reportados no llegan a valores extremos, que pudiera no llegar a ser una amenaza para ellos.

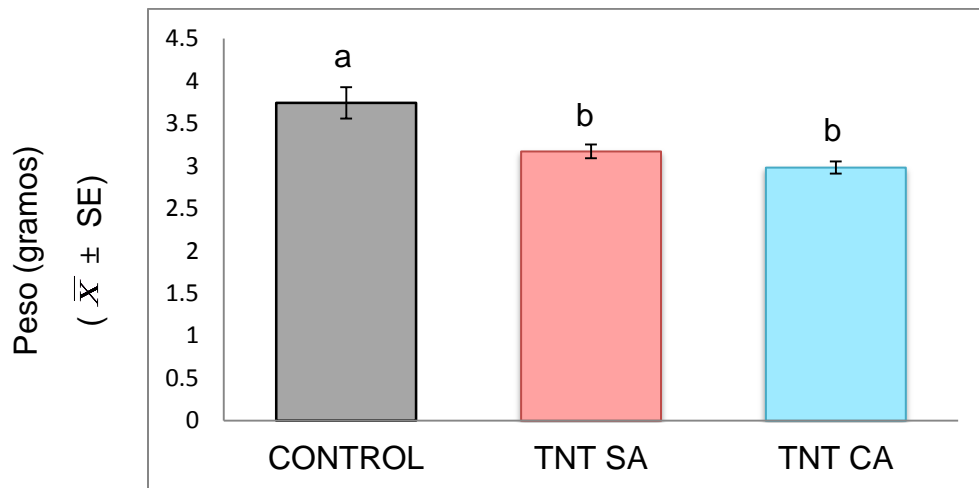


Figura 21. Promedio del peso en fetos del modelo tradicional: TNT SA (tortilla nixtamalizada tradicional sin ácido gálico), TNT CA (tortilla nixtamalizada tradicional con ácido gálico). Se muestra diferencia estadística: control vs TNT SA ($P \leq 0.05$), control vs TNT CA ($P \leq 0.05$). Los valores se dan como media \pm SE, n=6.

9.4 Efecto de la administración de la tortilla nixtamalizada por microondas con y sin ácido gálico en el modelo animal

9.4.1. Peso corporal de las hembras alimentadas con tortilla nixtamalizada por microondas con y sin ácido gálico

Se analizó el peso corporal de las hembras ganado durante la gestación (Figura 22) y se encontró que los valores obtenidos para el grupo control, el grupo TNM SA y el grupo TNM CA fueron 53.39 ± 5.07 g; 64.82 ± 4.31 g y 63.97 ± 4.65 g, respectivamente; sin cambios significativos ($P \geq 0.05$), lo cual sugiere que el consumo de tortilla de maíz azul de la raza mixteco no produce un aumento de peso fuera de los parámetros normales, debido a que las antocianinas pueden prevenir la obesidad en ratas mediante la inhibición de la expresión del neuropéptido Y y activando el receptor de ácido γ -amino butírico (GABA) en el hipotálamo (Badshah *et al.*, 2013) ya que se sabe que el exceso del neuropéptido Y estimula la ingesta de alimentos ricos en carbohidratos y lípidos originando obesidad (Calzada *et al.*, 2008).

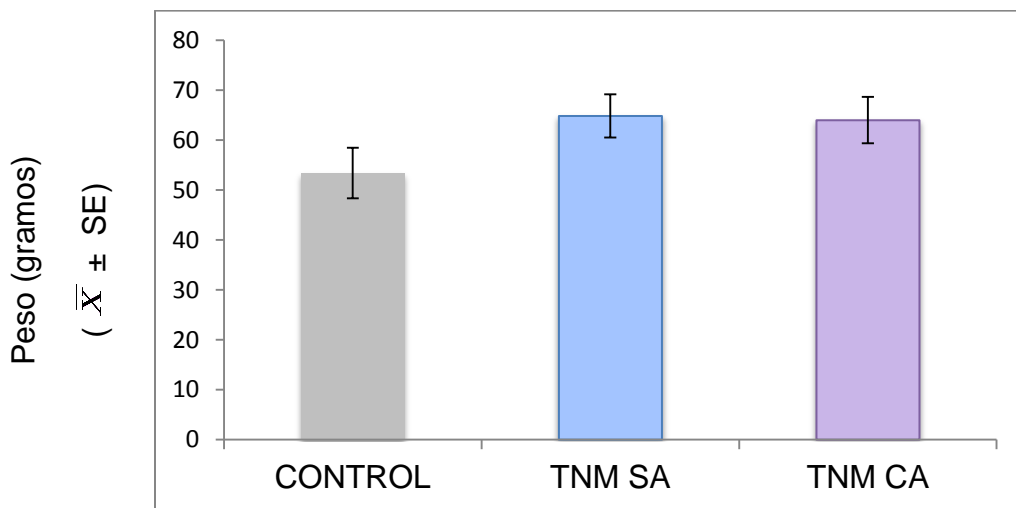


Figura 22. Peso corporal de la hembra ganado durante la gestación del modelo por microondas: TNM SA (tortilla nixtamalizada por microondas sin ácido gálico), TNM CA (tortilla nixtamalizada por microondas con ácido gálico). Sin diferencia estadística entre los grupos ($P \leq 0.05$). Los valores se dan como: media \pm SE, n=6.

9.4.2. Número de fetos por hembra gestante de la tortilla nixtamalizada por microondas con y sin ácido gálico.

Se evaluó el total de fetos por hembra gestante (Figura 23) y se obtuvo en el control 9.29 ± 0.36 fetos, en el TNM SA 10.43 ± 0.57 fetos y en TNM CA 13.00 ± 0.57 fetos, encontrando diferencia significativa con un aumento en el grupo TNM CA ($P = 0.048$) comparado con control, predominando las camadas promedio en TNM SA y camadas grandes en TNM CA. Al comparar entre los dos tipos de nixtamalización, esto quiere decir que entre la nixtamalización tradicional adicionada con o sin ácido y nixtamalización por microondas adicionada con o sin ácido se obtuvo diferencia con un incremento al usar el microondas entre TNT SA vs TNM CA ($P = 0.001$), TNT CA vs TNM CA ($P = 0.001$) y TNT SA vs TNM SA ($P = 0.007$), siendo el grupo de TNT SA con las camadas más pequeñas. Como se puede observar mientras el proceso de nixtamalización mejoró, al retener mayor cantidad de compuestos bioactivos usando el microondas, las antocianinas presentaron mejor función biológica; como se mencionó anteriormente hay estudios que relacionan las antocianinas con una actividad fitoestrogénica (Nanashima *et al.*, 2015) la cual podría inferirse en este estudio, debido a que el proceso de microondas adicionada con ácido gálico obtuvo mayor número de fetos de los 5 grupos.

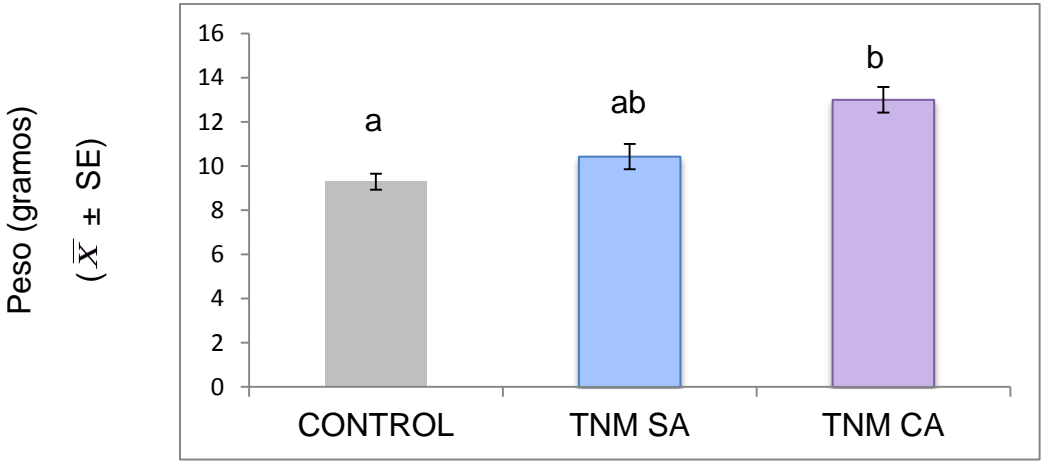


Figura 23. Promedio total de fetos por hembra preñada del modelo por microondas:TNM SA (tortilla nixtamalizada por microondas sin ácido gálico), TNM CA (tortilla nixtamalizada por microondas con ácido gálico). Se muestran diferencias entre TNM CA vs control ($P \leq 0.05$). Los valores se dan como: media \pm SE, n=6.

9.4.3 Peso de los fetos de la tortilla nixtamalizada por microondas con y sin ácido gálico

Se analizó el promedio del peso en fetos (Figura 24) por camada y se obtuvo los siguientes resultados: en el control 3.76 ± 0.18 g, en TNM SA 3.29 ± 0.16 g y en TNM CA 2.86 ± 0.16 g, mostrando una disminución de TNM CA comparada con control ($P = 0.003$), y al comparar entre la nixtamalización tradicional y la de microondas no se encontraron diferencias significativas. Sin embargo, se observó menor peso en los fetos de las tortillas tratadas con ácido gálico, ya que como se reportó en la gráfica anterior, fueron estas las que obtuvieron las camadas promedio y grande, lo cual coincide con lo reportado por Bautista *et al.* (2009) donde muestra una correlación entre el número de crías y el peso corporal, de acuerdo a ello, mientras mayor sea el número de crías, el peso corporal será reducido. Esto indica que no necesariamente el consumo de tortilla esté relacionado con la disminución de peso en los embriones de manera directa.

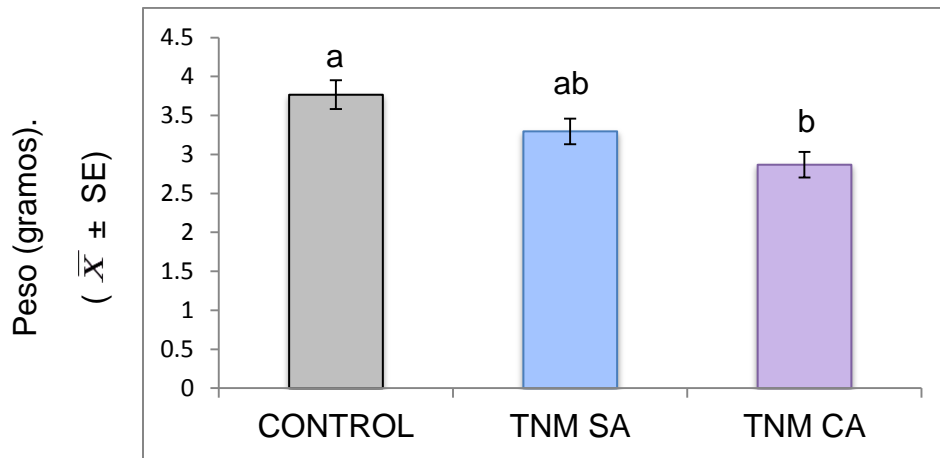


Figura 24. Promedio del peso en fetos del modelo por microondas: TNM SA (tortilla nixtamalizada por microondas sin ácido gálico), TNM CA (tortilla nixtamalizada por microondas con ácido gálico). Diferencia significativa entre Control vs TNM CA ($P \leq 0.05$). Los valores se dan como: media \pm SE, $n=6$.

9.5 Número de células en el giro dentado en fetos de ratas hembras alimentadas con tortilla nixtamalizada tradicional con y sin ácido gálico

Se seleccionó el giro dentado del hipocampo (Figura 25), de acuerdo a lo descrito en la metodología, en el cual, la neurogénesis es más intensa durante los últimos días del periodo prenatal. Los resultados se describieron mediante el número de células por unidad de área (células/mm²).

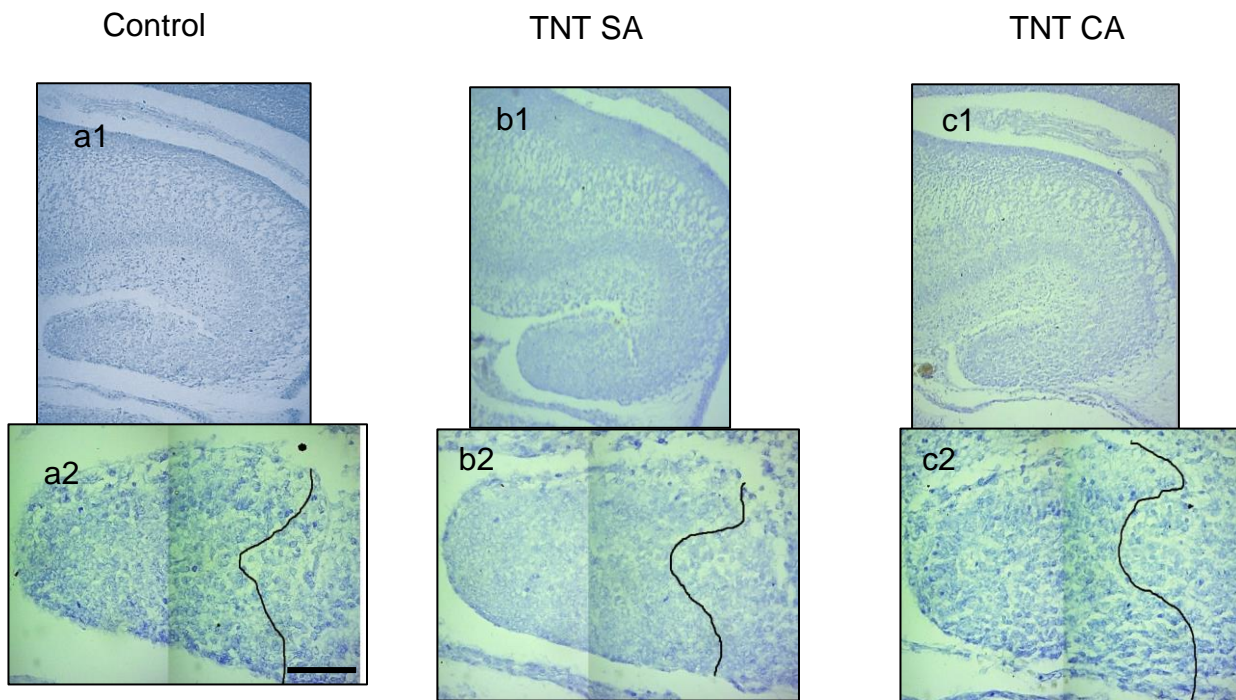


Figura 25. Hipocampo con la zona del giro dentado del modelo tradicional: Control: a1) hipocampo del control, a2) giro dentado del control; TNT SA (tortilla nixtamalizada tradicional sin ácido gálico): b1) hipocampo de la TNT SA, b2) giro dentado de la TNT SA; TNT CA (Tortilla nixtamalizada tradicional con ácido gálico): c1) hipocampo de la TNT CA, c2) giro dentado de la TNT CA. Escala: 50 μ

En la Figura 26 se observa que el número total de células del sistema nervioso por unidad de área obtenido en el grupo control fue de 5465.02 ± 267.27 células/mm², al suministrar la tortilla nixtamalizada tradicional sin ácido gálico (TNT SA) los valores fueron de 5900.28 ± 202.65 células/mm² y con la tortilla nixtamalizada tradicional con ácido gálico (TNT CA) fue de 6517.66 ± 411.91 células/mm². Es decir se obtuvo un incremento del 8 % en el grupo experimental TNT SA y un 19 % en el grupo TNT CA en comparación con el control, si bien esta diferencia no fue estadísticamente significativa, sugiere que la adición de ácido gálico probablemente proteja los compuestos bioactivos como las antocianinas en las tortillas y que su ingesta podría favorecer la neurogénesis. En trabajos anteriores realizados por el grupo de investigación, se ha reportado que el consumo de tortilla nixtamalizada en forma tradicional incrementó el área nuclear y el tamaño del hipocampo en ratones adultos, lo cual fue estadísticamente significativo (Alarcón *et al*, 2013). Al respecto se debe considerar que las magnitudes de las estructuras morfológicas de los cerebros entre adultos (15 mm ancho y 10 mm alto) y embriones (5 -6 mm ancho y 3-3.5 mm alto) presenta una gran diferencia (Paxinos y Ashwell, 2008), por lo cual se puede inferir en el análisis estadístico que estos valores apenas son perceptibles en la edad fetal.

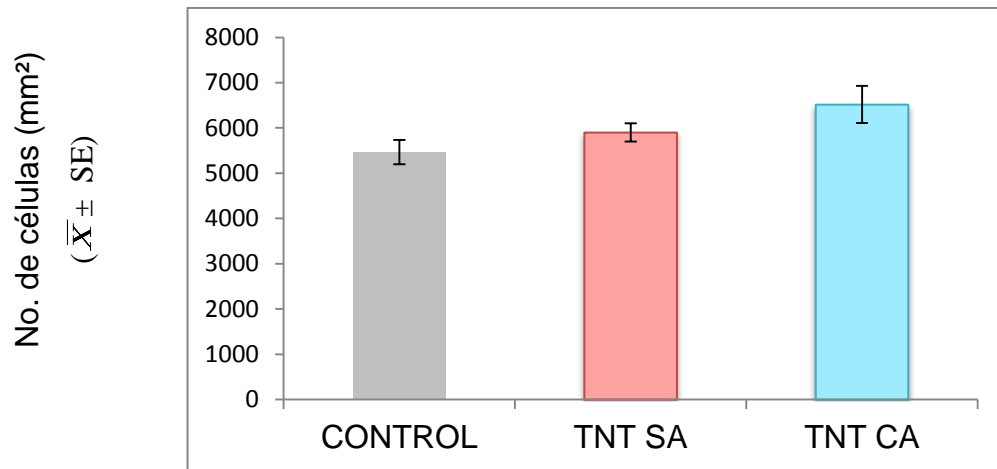


Figura 26. Conteo celular en el giro dentado del hipocampo del modelo tradicional: TNT SA (tortilla nixtamalizada tradicional sin ácido gálico), TNT CA (tortilla nixtamalizada tradicional con ácido gálico). Sin diferencia estadística ($P \leq 0.05$). Los valores se dan como: media \pm SE, n=6

9.6 Número de células en el giro dentado en fetos de ratas hembras alimentadas con tortilla nixtamalizada por microondas con y sin ácido gálico

Se tomaron las fotomicrográficas de la zona del giro dentado del hipocampo (Figura 27) de acuerdo a lo descrito en la metodología.. El conteo de células se reportó mediante el número de células por unidad de área (células/mm²).

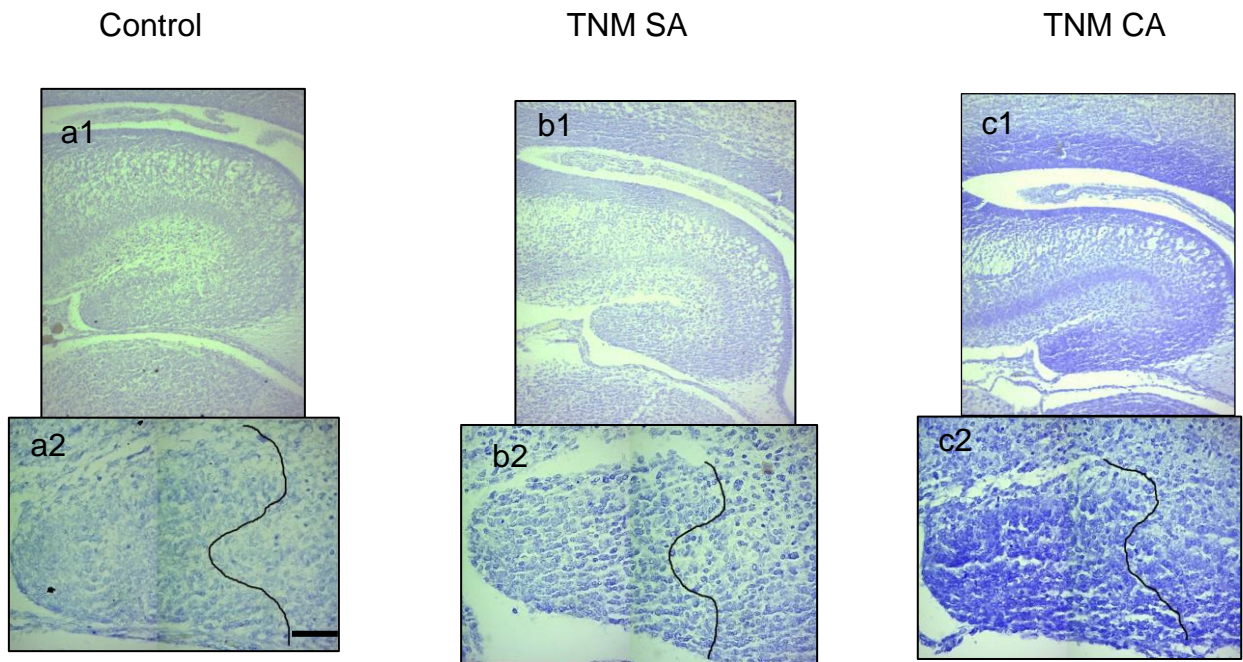


Figura 27. Hipocampo con la zona del giro dentado del modelo por microondas: Control: a1) hipocampo del control, a2) giro dentado del control; TNM SA (tortilla nixtamalizada por microondas sin ácido gálico): b1) hipocampo de la TNM SA, b2) giro dentado de la TNM SA; TNM CA (Tortilla nixtamalizada por microondas con ácido gálico), c1) hipocampo de la TNM CA, c2) giro dentado de la TNM CA. Escala: 50 μ

El número total de células obtenido en el grupo control fue de 5465.02 ± 267.27 células/mm², en la tortilla nixtamalizada por microondas sin ácido (TNM SA) los valores fueron 6285.66 ± 356.66 células/mm² y en el grupo de la tortilla nixtamalizada por microondas adicionada con ácido (TNM CA) fue de 7305.09 ± 515.23 células/mm² (Figura 28), mostrando un aumento significativo en la TNM CA comparada contra control ($P=0.013$) con un incremento del 33% y en la TNM SA un aumento del 15%, con respecto a la nixtamalización tradicional, se llevó a cabo una *t student* con un incremento del 23% en el grupo TNM CA comparada con TNT SA obteniendo una diferencia significativa ($P = 0.029$), por lo cual puede indicar una atenuación de la muerte neuronal programada, este dato coincide con lo reportado por Alarcón *et al.* (2013) en donde el suministro de tortilla de maíz azul de raza mixteco influye sobre aspectos morfológicos del hipocampo en ratones adulto observando un aumento en el área nuclear CA3 del hipocampo comparada con el control.

Con la diferencia que en el presente estudio se integró el uso de microondas y la adicción de ácido. Posiblemente se deba a que las antocianinas favorecen el efecto de los compuestos neuroquímicos, como el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), el cual es importante para la supervivencia de las neuronas, el desarrollo sináptico y la plasticidad en el sistema nervioso central (Lu *et al.*, 2008), ya que se ha reportado una correlación en los niveles de BDNF en varias zonas del hipocampo entre ellas el giro dentado derivado de una alimentación en flavonoides (Rendeiro *et al.*, 2013).

Por otra parte, sería interesante evaluar como este efecto de las antocianinas sobre las células de hipocampo podría influir sobre trastornos en edades tempranas, ya que podría ser derivada de alguna alteración del desarrollo del sistema nervioso durante la etapa prenatal. Casos de hiperactividad o déficit de atención en donde se ve relacionado con problemas de aprendizaje, como también en los niños con autismo donde se ha encontrado anomalías en el hipocampo (Bauman y Kemper, 1994).

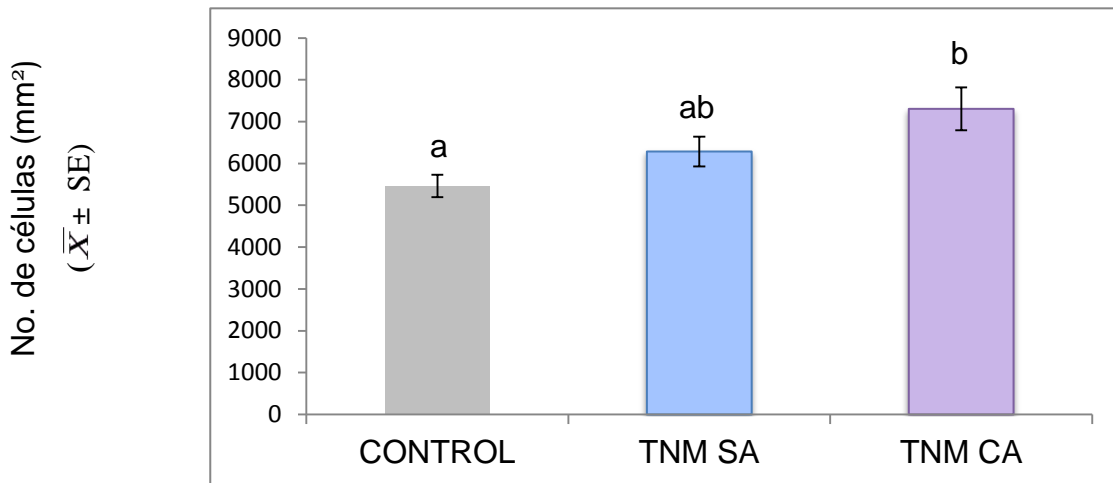


Figura 28. Conteo celular en el giro dentado del hipocampo del modelo por microondas: TNM SA (tortilla nixtamalizada por microondas sin ácido gálico), TNM CA (tortilla nixtamalizada por microondas con ácido gálico). Se muestra diferencia significativa entre TNM CA vs control ($P \leq 0.05$). Los valores se dan como: media \pm SE, $n=6$.

9.7 Tamaño de las células del giro dentado de los cinco grupos de estudio

Se analizó el tamaño aproximado de las células del giro dentado de los grupos experimentales (Figura 29). Se realizó el análisis en los rangos de los tamaños de la mayor población de células del sistema nervioso clasificándolos de 30 en $30 \mu\text{m}^2$ y omitiendo los valores $\geq 90 \mu\text{m}^2$ por ser esporádicos.

Dentro de la categoría de menor a 30 (5 a $29 \mu\text{m}^2$), el grupo de TNM CA mostró el mayor número de células en comparación con los grupos control ($P = 0.002$), TNT SA ($P = 0.004$), TNT CA ($P = 0.002$) y TNM SA ($P = 0.001$), lo cual fue estadísticamente significativo.

En la categoría de células con un tamaño mayor o igual a $30 \mu\text{m}^2$ (de 30 hasta $59 \mu\text{m}^2$), el grupo de TNM CA tuvo el mayor número en relación con los demás tratamientos, siendo significativo estadísticamente. Así mismo, se pudo observar que la administración de la tortilla elaborada a partir de granos de maíz

azul nixtamalizados empleando microondas y sin adición de ácido, grupo TNM SA, mostró un aumento en el número de células en comparación con el grupo control ($P = 0.002$), TNT SA ($P = 0.005$), TNT CA ($P = 0.001$); además, el grupo de TNT SA también mostró un mayor número de células en el giro dentado en comparación con el grupo control ($P = 0.033$), mientras que no mostró diferencias con el grupo TNT CA ($P = 0.922$). En suma, los grupos administrados con tortillas elaboradas a partir de granos de maíz azul nixtamalizados en forma tradicional sin ácido gálico mostraron un menor número de células de rango intermedio en comparación con el grupo administrado con tortillas elaboradas con granos nixtamalizados utilizando microondas sin y con ácido gálico.

Es interesante notar que el tratamiento con microondas incrementó al doble el número de células, teniendo relación con la densidad celular, ya que el grupo de TNM CA fue el que tuvo mayor número de células por unidad de área. Cabe destacar, que este rango intermedio es relevante, debido a que en el giro dentado se ha reportado que predominan células de 45 a 60 μm^2 , analizado en ratas con una semana de nacimiento (Sah *et al.*, 2016).

En el rango de $\geq 60 \mu\text{m}^2$ (de 60 a 89 μm^2) hubo diferencias entre todos los grupos, mostrando mayor cantidad de células el grupo TNM SA en comparación con control ($P = 0.005$), TNT SA ($P = 0.020$), TNT CA ($P = 0.015$) y TNM CA ($P = 0.010$). Es interesante notar que el grupo control tuvo el menor número de células en este rango comparado con TNT SA ($P = 0.015$), TNT CA ($P = 0.020$), TNM CA ($P = 0.033$) y sobre todo con TNM SA ($P = 0.005$). Lo cual hace notar que el consumo de tortilla sin adición de ácido favorece a las células de rangos mayores, más aún, con el uso de microondas.

Si bien en el presente estudio no se evaluó el tipo de célula en el giro dentado del hipocampo en los fetos de hembras alimentadas con tortilla azul elaborada a partir de granos nixtamalizados en forma tradicional y con microondas sin y con adición de ácido gálico, con los datos obtenidos se puede decir que las células presentan un área mayor a 30 μm^2 . De acuerdo a lo reportado por García

et al. (2006), el tamaño de glía va de 15 a 40 micras y de neuronas desde 25 hasta 90 micras. Por consiguiente, en el presente estudio probablemente las células más pequeñas corresponden a glía y las de mayor tamaño a neuronas. Cabe mencionar que en esta investigación, las células de menor rango fueron las menos abundantes debido a que la gliogénesis no ha alcanzado climax en la edad de estudio, mientras que en el adulto las células de la glía son unas 10 veces más numerosas que las neuronas (FECYT, 2007).

Con respecto a los datos de menor rango ($< 30 \mu\text{m}^2$), pudieran abarcar a las células de la glia, en el cual, los valores del grupo de microondas se duplicaron con respecto al control; por lo tanto se podría evaluar entre ambos grupos en la primer semana de nacimiento que corresponde al climax de la gliogénesis.

Asimismo en los rangos ≥ 30 y $\geq 60 \mu\text{m}^2$, también se muestra un efecto sobresaliente con el uso de microondas comparado con el control y los grupos de tortilla tradicional. Se podría inferir que la mayor cantidad de células en este rango serían neuronas. Es así que un análisis específico de neuronas en ambos grupos: control y microondas, permitiría discernir el efecto entre la proliferación celular el día 18 fetal o atenuación de la muerte celular programada (apoptosis) el día 20 fetal.

Los resultados de la presenta tesis se suman a la importancia del maíz azul en el consumo de alimentos ricos en antioxidantes, teniendo como ventaja su amplia disponibilidad; si a ello se le suma el empleo de tecnologías emergentes y la adición de ácido orgánico en la elaboración de la tortilla, puede resultar una buena propuesta de alimentación en la etapa de gestación para favorecer el adecuado desarrollo del feto.

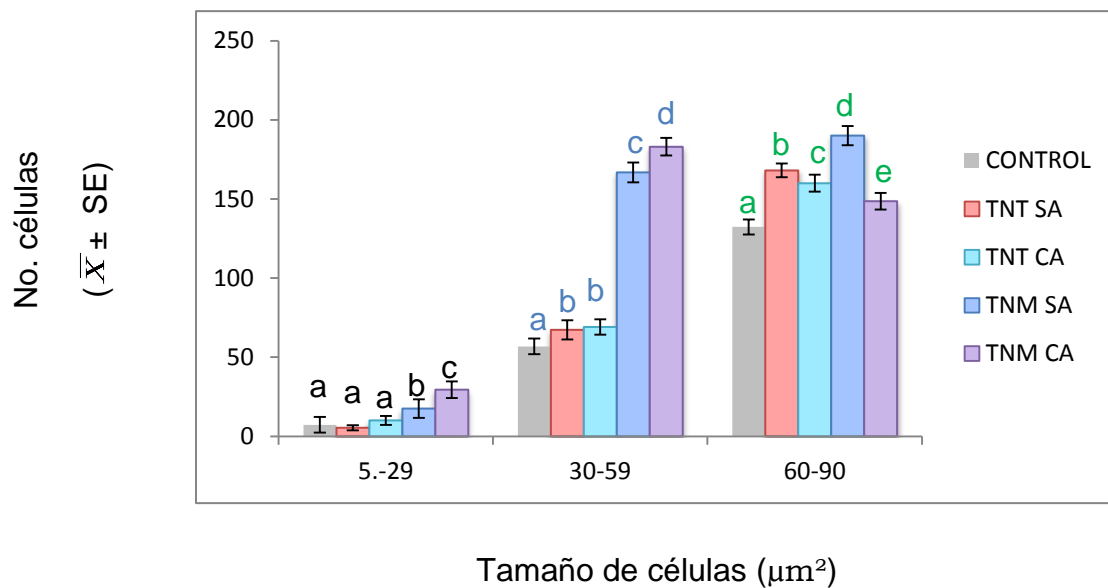


Figura 29. Clasificación del tamaño de células en todos los grupos experimentales: TNT SA (tortilla nixtamalizada tradicional sin ácido gálico), TNT CA (tortilla nixtamalizada tradicional con ácido gálico), TNM SA (tortilla nixtamalizada por microondas sin ácido gálico), TNM CA (tortilla nixtamalizada por microondas con ácido gálico). Se muestra diferencia significativa en el rango de 5 a 29 μm^2 en los grupos TNM CA vs control, TNT SA, TNT CA, TNM SA con una $P \leq 0.05$. En el rango de 30 a 59 μm^2 se muestra diferencia en TNM CA vs control, TNT SA, TNT CA y TNM SA con un $P \leq 0.05$. También el grupo TNM SA con todos los grupos, además de los que se muestran en la gráfica. En el rango de 60 a 90 μm^2 todos mostraron diferencias con una $P \leq 0.05$. Los valores se dan como media \pm SE, n=6.

10. CONCLUSIONES

El procesamiento con microondas y la adición de ácido gálico en la nixtamalización, permite mantener en mayor grado los compuestos bioactivos en la tortilla de maíz azul y su administración en el modelo animal sugiere una actividad fitoestrogénica en las hembras y un efecto positivo en la neurogénesis en el giro dentado de los fetos. Lo anterior sugiere el potencial de aplicación de tecnologías no convencionales y ácidos orgánicos para la obtención de tortillas de maíz azul cuyo consumo signifique un efecto benéfico durante la etapa de gestación y contribuya a la prevención de alteraciones relacionadas con el hipocampo.

11. PERSPECTIVAS

Dado a los resultados positivos sobre el empleo de la adición de ácido gálico en el proceso de nixtamalización, sería de interés realizar estudios más profundos que permitan evaluar puntualmente el contenido de este ácido en las tortillas de maíz azul, mediante técnicas analíticas como HPLC, así como los cambios en el perfil de antocianinas.

Las condiciones experimentales abren un panorama de exploración en cuanto a los diferentes tipos de células (glía o neurona) que se encuentran en cada una de las zonas del hipocampo, además del propio giro dentado. Así mismo, sienta las bases para futuros estudios en donde se evalué el efecto de la ingesta de alimentos ricos en antioxidantes en el desarrollo de la neurogénesis de fetos y su impacto en enfermedades como autismo.

12. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Abdel-Aal E. S., C. J. Young, I. Rabalski, 2006. Anthocyanin composition in black, blue, pink, purple, and red cereal grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 4696-4704.

Adom K. K., R. H. Liu, 2002. Antioxidant activity of grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 6182-6187.

Agama-Acevedo E., M.A Ottenhof., M.I. Farhat., O. Paredes-López, J. Ortíz-Cereceres., L.A Bello-Pérez. 2004. Efecto de la nixtamalización sobre las características moleculares del almidón de variedades pigmentadas de maíz. *Interciencia* 29:643-649.

Alarcón A. 2013. Polifenoles, antocianinas, actividad antioxidante y actividad biológica de tortilla y grano de maíz azul de la raza Mixteco. Tesis de doctorado. Universidad Veracruzana.

Alarcón-Aparicio E., J. Bañuelos-Pineda, R. I. Guzmán-Gerónimo, M. L. Ramos-Ibarra, C. C. Gómez-Rodiles, E. Rivas-Celis, J. Acero-Ortega, L. O Aguirre-López y J. L. Chávez-Servia, 2011. Efectos del consumo de tortilla de maíz azul de la raza mixteco sobre parámetros morfológicos del hipocampo de ratón. *Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Jalisco, México*, pp 388.

Alarcón-Zavala T. M., R. I. Guzmán-Gerónimo, E. S., Hernández., J. E., Alvarado, S. H. Meza, R. M. O. Ros, S. L. Chávez J., 2011. Polifenoles totales, antocianinas, actividad antioxidante de maíz azul y su efecto en ratas Wistar con síndrome metabólico inducido. *Congreso Internacional Biología Química y agronomía*, 1:1-8

Altaman J. y Bayer S.A. 2000. Atlas of prenatal rat brain development. CRC Press Inc. Boca Raton, Florida. pp 490.

Anderson E., 1946. Maize in Mexico: A preliminary survey. *Annals of Missouri Botanical Garden*, 33: 147- 247.

Andersen P., T. V. P. Bliss, K. K. Skede, 1971. Lamellar organization of hippocampal excitatory pathways. *Experimental Brain Research*, 13: 222-238.

Araya D. M., S. A. Santos, S., M. A. Alves, O. V. Kress, L. Moraes, M. B. Ribeiro, R. M. Przybylski, J. P. Wernerck, M. G. C. Tavares, M. M. Soares., M. R. Santos, R. O. Mendez., M. F., Santiago, 2012, Effects of protein restriction during gestation and lactation on cell proliferation in the hippocampus and subventricular zone: Functional implication. Protein restriction alters hippocampal/SVZ cell proliferation. *Brain Research*, 1496: 10-27.

Badui S., 2013. Química de los alimentos. 5ª ed. Editorial Alhambra. México, D.F. pp.399.

Badsha H. I., S. E. Ullah Kim, T. H., Kim, H. Y. Lee, M. O. Kim 2013. Anthocyanins attenuate body weight gain via modulating neuropeptide Y and GABAB1 receptor in rats hypothalamus. *Neuropeptides*, 47: 347-353

Bauman M. L y T. L Kemper, 2005, Neuroanatomic observations of the brain in autism: a review and future directions. *International Journal of Developmental Neurosciencie*, 23: 183-187.

Bautista A., García-Torres E., Prager G., Hudson R., Rodel H., 2009. Development of behavior in the litter huddle in rat pups: within and between litter differences. *Developmental Psychobiology* 52: 35-43.

Betran F. J., A. J. Bockholt, L. W. Rooney, 2001. Blue corn. *In: Specialty Corns.* A.R Hallauer (ed). Florida, Estados Unidos Americano. Ed. CRC Press. pp:145-169.

- Birbrair A., T. Zhang, Z. Wang, M. L. Messi, G. N. Enikolopov, A. Mintz, O. Delbono, 2013.** Skeletal muscle neural progenitor cells exhibit properties of NG2-glia. *Experimental Cell Research*, 319: 45-63.
- Boyer C., J. Shannon 2001.** Carbohydrates of the kernel, corn: chemistry and technology. *Journal of Cereal Science*, 1:253-272.
- Brand-Williams W., M. E. Cuvelier, C. Berset, 1995.** Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft and Technologie*, 28 (1): 25-30.
- Buffler C. 1993.** *Microwave Cooking and Processing.* Van Nostrand Reinhold. New York, The United States, pp 157-159.
- Bustamente Z. E, 2007.** El sistema nervioso: desde las neuronas hasta el cerebro humano. Editorial Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. pp 237.
- Cabrera-Soto M. L., G. A. Salinas-Moreno, Velázquez-Cardelas, E. Espinoza-Trujillo, 2009.** Content of soluble and insoluble phenols in the structures of corn grain and their relationship with physical properties. *Agrociencia*, 43:827-839.
- Calderón G. R., F. A. Santillán, C. O. Rodríguez, S. A. Pomar, T. M. Gutierrez, 1988.** Autismo infantil II: Estudio de Lenguaje en 27 niños. *Boletín médico del Hospital Infantil de México*, 45:79-83.
- Capilla A., D. Romero, F. Maestu, P. Campo, S. Fernández, J. González Márques, A. Fernández, T. Ortiz, 2004.** Emergencia y desarrollo cerebral de las funciones ejecutivas. *Actas Españolas de Psiquiatría*. 32:377–386.
- Calzada R., N. Altamirano, M. Luiz-Ruiz, 2008.** Reguladores neuroendocrinos y gastrointestinales del apetito y la saciedad. *Boletín Médico del hospital infantil de México. Distrito Federal*, 65:468-487.

- Chandrasekaran S., S. Ramanathan and T. Basak, 2013.** Microwave food processing. *Food Research International*, 52:243-261.
- Clifford M. N., 2000,** Anthocyanins nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80: 1063-1072.
- Cone K. C., 2007.** Anthocyanin synthesis in maize aleurone tissue. *Plant Cell Monographs*, 8:121-139.
- Cortés-Gómez A., Y. M. Salinas, E. S. Martín-Martínez, F. Martínez-Bustos, 2006.** Stability of anthocyanins of blue maize (*Zea mays L.*) after nixtamalization of separated pericarp-germ tip cap and endosperm fractions. *Journal of Cereal Science*, 43: 57-62.
- De la Parra C., S. O. Serna S, R. Hai L, 2007.** Effect of processing on the phytochemical profiles and antioxidant activity of corn for production masa, tortillas, and tortilla chips. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 4177-4183.
- Decareau R. V., 1985.** *Microwaves in the food processing industry.* 8^a. ed. Schweogert. Ed. Elsevier academic Press. New York, pp. 234.
- Deshmukh S.S., J. J. Knierim, 2012.** Hippocampus. *Wires Cognitive Science*, 3: 231-251.
- Durst R. y R. E. Wrolstad, 2001.** Separation and Characterization of Anthocyanins by HPLC. *In: Handbook of Food Analytical Chemistry.* New Jersey: John Wiley & Sons. pp. 33-45.
- Escalante-Aburto A., B. Ramírez-Wong, P. I. Torres-Chávez, J. D. Figueroa Cárdenas, J. López-Cervantes, J. M. Barrón-Hoyos, I. Morales Rosas, 2013.** Effect of extrusion processing parameters on anthocyanin content, physicochemical properties of nixtamalized blue corn expanded extrudates. *CyTA Journal of Food*, 11: 29-37.

FAO, 1993. El maíz en la nutrición humana. Colección FAO: Alimentación y nutrición, 25:24-67.

FECYT, 2007. Unidad Didáctica: Viaje al universo neuronal. Ed. MIC. España, Madrid. pp 14-15.

Fombonne E., C. Marcin, A. C. Manero, R. Bruno, C. Diaz, M. Villalobos, K. Ramsay, B. Nealy 2016. Prevalence of autism spectrum disorders in Guanajuato, Mexico: The leon survey. *Journal of Autism and Developmental Disorders* 46:1669-1685.

Frith U, 1992. Autismo: Hacia una explicación del enigma. Editorial Alianza. Madrid, España, 296 p.

Galarza, J. M. 2011. Situación actual y perspectivas del maíz en México. Servicio de información agroalimentaria y pesquera, 208 p.

Garzón, G. A. 2008. Anthocyanins as natural colorants and bioactive compounds. A review. *Acta Biologica Colombiana*, 13:27-36.

García H. M. R., J. C. G. Jiménez, R. S. Jacito, G. H. Orozco, A. C. Ortega y, J. M. C. Hernández, 2010. Proyecto FZ016 “Conocimiento de la diversidad y distribución actual del maíz nativo y sus parientes silvestres en México, segunda etapa 2008-2009”. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, 44 p.

García P. E. y G. H. Fernandez 2006, *Histología humana práctica: enfermería.* Ed. Centro de estudios Ramón Areces, S.A. Madrid, pp. 131-133.

Ghiselli A., M. Nardini, A. Baldi y C. Scaccini, 1998. Antioxidant Activity of Different Phenolic Fractions Separated From an Italian Red Wine. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 46 (2), 361-367.

Goodman M. M. y R. McK Bird, 1977. The races of maize IV: Tentative grouping of 219 Latin American races. *Economic Botany*, 31:204-221.

Gupta M. K, 2017. Practical Guide to vegetable oil processing. Ed. Elsevier, Texas, United States, pp 217-247.

Herbert M. R., J. H Gordon, T. A. Kristen, D. A Ziegler y N. Makris, 2002. Abnormal Asymmetry in Language Association Cortex in Autism. *Annals of Neurology*, 52: 588- 596.

Hernández R. G, 2015, Actividad antiproliferativa de antocianinas purificadas de tortilla de maíz azul de las razas mixteco, bolita y chalqueño en la línea celular de cáncer de próstata du145. Tesis de maestría en ciencias alimentarias. Universidad Veracruzana. Xalapa, Veracruz, pp. 56.

Hernández X. E. y G. F. Alanís, 1970. Estudio morfológico de cinco razas de maíz de la Sierra Madre Occidental de México: Implicaciones filogenéticas y fitogeográficas. *Agrociencia*, 5: 3–30.

Hidalgo M., M. S. Sonsoles, I. Recio, C. Sanchez-Moreno, B. T. Pascual, G. Rimbach, S. Pascual, 2012. Potencial antiinflammatory, antiadhesive, anti/estrogenic, and angiotensin converting enzyme inhibitory activities of anthocyanins and their gut metabolites. *Genes and Nutrition*, 7: 295-306.

Hutchings J. B., 1999, Food Color and Appearance. Springer. 2ª. ed. Ed. Aspen Publication. Gaithersburg, Maryland, pp 610.

Kumar A. and Jain V. K. 2008. Solid state fermentation studies of citric acid production in African. *Journal of Biotechnology* 7:644-650.

Ichikawa H., T. Ichiyanagi, B. Xu, M. Yoshii Nakajima., T. Konishi, 2001. Antioxidant activity of anthocyanin extract from purple black rice. *Journal of Medicinal Food*, 4: 211-218.

- Landi M., M. Tattini, S. K. Gould, 2015.** Multiple functional roles of anthocyanins in plant-environment interactions. *Environmental and Experimental Botany*, 119: 4-17.
- Li J., C. E Walker, Faubion, M. J. 2010,** Acidulant and oven type affect total anthocyanin content of blue corn cookies. *Journal of the Science and Food Agriculture*, 91: 38-43.
- Liu R. H, 2004.** Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: Mechanism of action. *The Journal of Nutrition*, 134:3479S-3485S.
- López-Martínez L. X., H. S. García-Galindo, 2009.** Actividad antioxidante de extractos metanólicos y acuosos de distintas variedades de maíz mexicano. *Nova Scientia*, 3, (2): 51-65.
- Lu. Y., K. Christian y B. Lu. 2008.** BDNF: a key regulator for protein synthesis dependent LTP and long term memory. *Neurobiology Learn Memory*, 89 (3): 312-323.
- Maccarone E., A. Maccarrone and P. Rapisarda, 1985.** Stabilization of anthocyanins of blood orange fruit juice. *Journal of Food Science*, 50: 90.
- Macy R, 1992.** *Química Orgánica Simplificada*. Granados R. y Meléndez E. Ed. Reverté. Barcelona, España, pp. 500.
- Magaña Hernández M., P. Ruiz-Lázaro, 2001.** Trastornos específicos del aprendizaje, dificultades escolares abordaje pediátrico. Hidalgo Vicario M.I, Rubio Roldan L.A., Clemente Pollán J.(eds). *Pediatría extrahospitalaria*. Ergón, Madrid, pp 437-442.
- Markakis P., G. E. Livingston and R. C. Fellers, 1957.** Quantitative Aspects of Strawberry Pigment Degradation. *Journal of Food Science*, 22:117-130.

- Markakisis P, 1982.** Stability of anthocyanins in foods. *In* :Anthocyanins as Food Colors. P. Markakis (ed.). Ed.Elsevier Academic Press, New York. pp163.
- Moore K. L. y T. V. N. Persaud, 2003.** The developing human:Clinically oriented embryology. Moore KL (ed). 7ª ed. Ed. Saunders .Philadelphia, Pennsylvania, pp. 521.
- Morgane J. P., R. Austin-Lafrance, J. Bronzino, J.Tonkiss, S. Díaz-Cintra., L Cintra, T. Kemper y R. J. Galler, 1993.** Prenatal Malnutrition and Development of the Brain. *Neurosciencie and Biobehavioral Reviews*, 17: 91-128.
- Nanashima N., K. Horie, T. Tomisawa, M. Chiba, M. Nakano, T. Fujita, H. Maeda, M. Kitajima, S. Takamagi, D. Uchiyama, J. Watanabe, T. Nakamura and Y. Kato, 2015.** Phytoestrogenic activity of blackcurrante (*Ribes nigrum*) anthocyanins is mediated through estrogen receptor alpha. *Molecular Nutrition and Food Research*,. 59: 2419-2431.
- Olivares-Hernández J., E. Juárez-Aguilar y F. García-García, 2015.** El hipocampo: neurogénesis y aprendizaje. *Revista médica de la Universidad Veracruzana*, pp. 15: 20-25
- Ortiz M. A., L. Dorantes, J. Galindez, R. I. Guzmán, 2003.** Efecto of different extraction methods on fatty acids, volatile compounds, and physical and chemical properties of avocado. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 2216.
- Pascual-Castroviejo I. 2008.**Trastornos por déficit de atención e hiperactividad (TDAH) *Neuropediatría*. Madrid,. 20:140-144.
- Paxinos G. y K. W. Ashwell, 2008.** Atlas of developing rat nervous system. 3º(ed). Ed. Elsevier, New York, pp 272-273.
- Pedrero D. L. y R. M. Pangborn, 1989.** Evaluación sensorial de los alimentos. *Métodos Analíticos*. Ed. Alhambra, México pp. 251.
- Polaino A, 1982.** Introducción al estudio científico del autismo infantil. Ed. Alhambra, España, pp. 204.

- Ramón y Cajal S., 1893.** Estructura del asta de Ammon. Anales de la Sociedad Española de Historia Natural, 22: 53-114.
- Rapin I. and M. Dunn, 1997.** Language disorders in children with autism. Seminars in Pediatric Neurology, 4:86-92.
- Rendeiro C., D. Vauzour, M. Rattray, P. Waffo-Tégoua, J. M. Mérillon, L. Butler, C. Williams y Spencer J. P., 2013.** Dietary levels of pure flavonoids improve spatial memory performance and increase hippocampal brain derived neurotrophic factor. Public Libray Science, 8(5): e63535.
- Rivas M., 2010.** Impregnaciones Metálicas. Atlas fotomicrográfico de estructuras subcelulares,células y tejidos animales. Universidad Autónoma de México, México,Distrito Federal, pp.11.
- Romero Cerezo C., 2001.** Educación Física y su investigación didáctica. *In:* A. Díaz Y E. Segarra. Actas del 2º Congreso Internacional de Educación Física y diversidad. Consejería de Educación y Universidades de Murcia, España, pp. 591-616.
- Salinas-Moreno Y., F. Martínez-Bustos, M. Soto-Hernández, R. Ortega Paczka y J. L Arellano-Vázquez, 2003.** Efecto de la nixtamalización sobre las antocianinas de granos pigmentados. Agrociencia, 37: 617-628.
- Salinas-Moreno Y., J.J. Pérez-Alonso, G. Vázquez-Carrillo, F. Aragón-Cuevas, G.A. Velázquez-Cardelas. 2012.** Antocianinas y actividad antioxidante en maíces (*Zea mays* L.) de las razas chalqueño, elotes cónicos y bolita. Agrociencia, 46: 693-706.
- Salinas Moreno Y., F.J. Cruz, S.A. Diaz, F. Castillo. 2012.** Granos de maíces pigmentados de Chiapas, características físicas, contenido de antocianinas y valor nutracéutico. Revista Fitotecnia Mexicana 35: 33 - 41.

Salinas Moreno Y., F.C. Aragón, C.M. Ybarra, J. V. Aguilar Villarreal, B.L. Altunar, E.M. Sosa. 2013. Caracterización física y composición química de razas de maíz de grano azul/morado de las regiones tropicales y subtropicales de Oaxaca. *Revista Fitotecnia Mexicana* 36: 23-31.

Sánchez J. J., M. M. Goodman y C. W. Stuber, 2000. Isozymatic and morphological diversity in the Races of maize of México. *Economic Botany*, 54: 43–59.

Sánchez-Muñiz F. J., E. Gesteiro, M. Espárrago-Rodilla, B. Rodríguez-Bernal y S. Bastida, 2013. La alimentación de la madre durante el embarazo condiciona el desarrollo pancreático, el estatus hormonal del feto y la concentración de biomarcadores al nacimiento de diabetes mellitus y síndrome metabólico. *Nutrición Hospitalaria*, 28: 250-274.

Scarbert A., G. Williamson, 2000. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *The Journal of Nutrition*, 130: 2073S-2085S.

Schlegel W. 1992. Commercial pasteurization and sterilization of food products using microwave technology. *Food Technology*, 46: 62-63.

Sah N., D. B. Peterson, S. T. Lubejko, C. Vivar, V. H. Praag, 2017. Running reorganizes the circuitry of one week old adult born hippocampal neurons. *Scientific Reports*, 7: 10903.

Serna-Saldivar, 2009. Research developments in the science, technology and nutritional value of maize based nixtamalized foods. *In: The ICC book of ethnic cereal-based foods across the continents*. J. Taylor, R. Cracknell (eds). University of Pretoria, South Africa, pp. 133-163.

Taitzoglou I. A., M. Tsantarliotou, I. Zervos, D. Kouretas y N. A. Kokolis, 2001. Inhibition of human and ovine acrosomal enzymes by tannic acid *in vitro*. *The Journal of the Society for reproduction and fertility*, 121:131–137.

- Timberlake C. F, 1980.** Anthocyanins-Occurrence, Extraction and Chemistry. Food Chemistry, 5: 69-80.
- Thompson J. L., M. M. Manore, L. A. Vaughan, 2008.** La nutrición en el ciclo vital: embarazo primer año de vida. Thompson JL, Manore MM, Vaughan LA, (eds). Ed. Pearson Education SA. San Francisco, pp.716.
- Trejo A., A. Feria and C. Wild. 1982.** The Role of Lime in the Alkaline Treatment of Maize for Tortilla Production, Modification of Proteins: Food, Nutritional, and Pharmacological Aspects. Advances in Chemistry. American Chemical Society pp. 145.
- Trujillo C. C., L. J. F. Rodríguez, M. M. S. Herrera, S. J. L. Chávez y G. R. I. Guzmán, 2015.** Effect of blue corn tortilla in rats Wistar anxiety tested. XX Biochemical Engineering National Congress. Veracruz, Veracruz, México, pp. 127.
- Tsuda, T. 2008,** Regulation of adipocyte function by anthocyanins; Possibility of preventing the metabolic syndrome. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56: 642–646.
- Vauzour D., G. Ravaioli, K. Vafeiadou, 2008.** Peroxynitrite induced formation of the neurotoxins 5-s-cysteinyl-dopamine and DHBT.1: implications for parkinsons´s disease and protection by polyphenols. Archives of Biochemistry and Biophysics, 476:145-151.
- Wallon H. 1976,** La Evolución Psicológica del Niño. Miranda Pacheco M. Ed. Crítica. Barcelona, pp. 184.
- Warburton M. L., J. C. Reif, M. Frisch, M. Bohn, C. Bedoya, X. C. Xia, J. Crossa, J. Franco, D. Hoisington, K. Pixley, S. Taba, A. E. Melching, 2008.** Trends in genetic diversity in CIMMYT non-temperatmaize germplasm. Crop Science, 48: 617-624.

- Wellhausen E. J., L. M. Roberts, E. Hernández X., 1951.** Razas de maíz en México, su origen, características y distribución. Oficina de Estudios Especiales Secretaría de Agricultura y Ganadería, pp. 239.
- Wing L., 1998,** El autismo en niños y adultos: Una guía para la familia. Ediciones Paidós Ibérica. Barcelona, España, pp. 287.
- Wolf M. J., C. L. Buzan, M. M. y C. E. MacMasters Rist, 1952.** Structure of the mature corn kernel. *Cereal Chemistry*, 29: 321-382.
- Wolf M. J., V. Khoo, y H. L. Seckinger, 1969.** Distribution and subcellular structure of endosperm protein in varieties of ordinary and high-lysine maize. *Cereal Chemistry*, 46: 253-263.
- Wong D., 1995.** Química de los alimentos: Mecanismo y Teoría. Ed. Acribia, S.España, pp.476.
- Wrolstad R. E., R. W. Durst. and J. Lee, 2005.** Tracking colour and pigment changes in anthocyanins products. *Food Science and Technology*, 16:423-428.
- Zamora-Contreras L. N., J. L. Chávez-Servia, R. R. M. Oliart, S. Herrera-Meza, E. Meza-Alvarado, I Santiago-Roque y R. I. Guzmán-Gerónimo 2015,** Efecto de la ingesta de tortilla de maíces azules nativos en ratas Wistar con síndrome metabólico inducido. *Revista anual de la Conferencia Científica Anual sobre Síndrome Metabólico*. 2: 81-84.

13. ANEXOS

Nombre _____ Fecha _____ Sexo _____ Edad _____

Instrucciones: Por favor pruebe las muestras de izquierda a derecha. Marque con una X el nivel de agrado en cuanto al color, sabor y textura de cada muestra. Entre muestra y muestra enjuague la boca con agua.

Muestra _____

	Color	Sabor	Textura
Me gusta mucho			
Me gusta moderadamente			
Me gusta levemente			
No me gusta ni me disgusta			
Me disgusta levemente			
Me disgusta moderadamente			
Me disgusta mucho			

Figura 30. Prueba sensorial

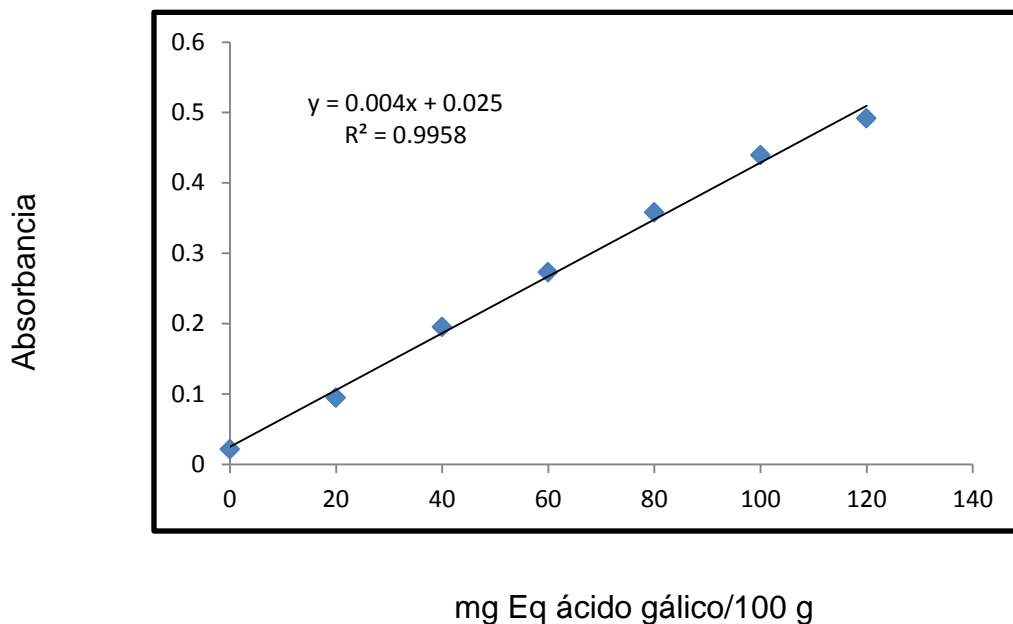


Figura 31. Curva de calibración para polifenoles totales

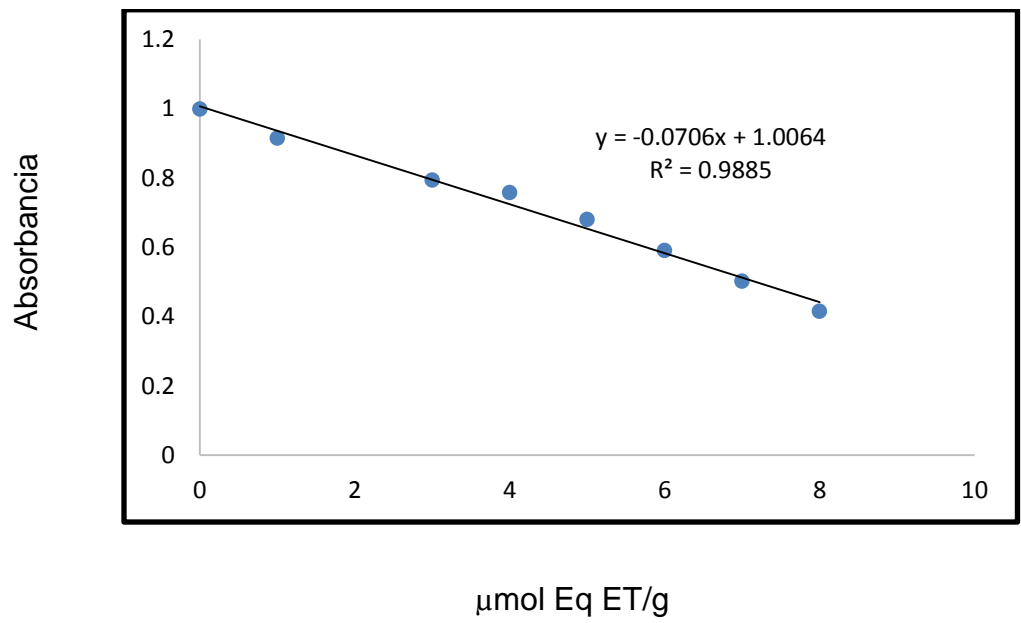


Figura 32. Curva de calibración para DPPH

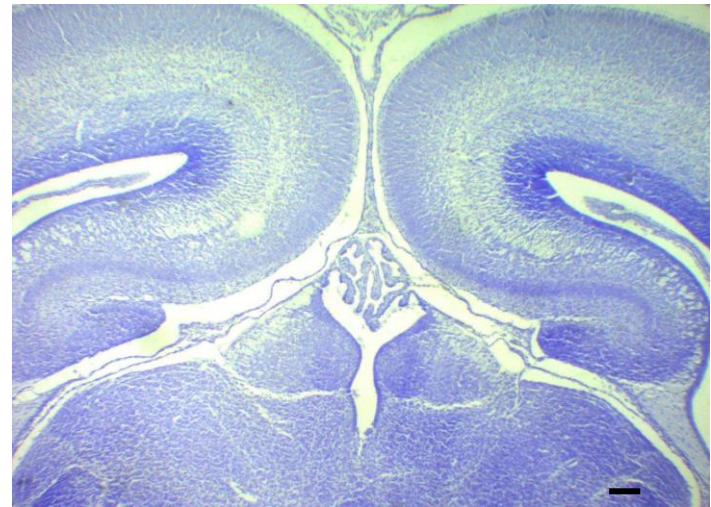


Figura 33. Corte coronal de los dos hemisferios cerebrales del hipocampo en feto. 100 μ

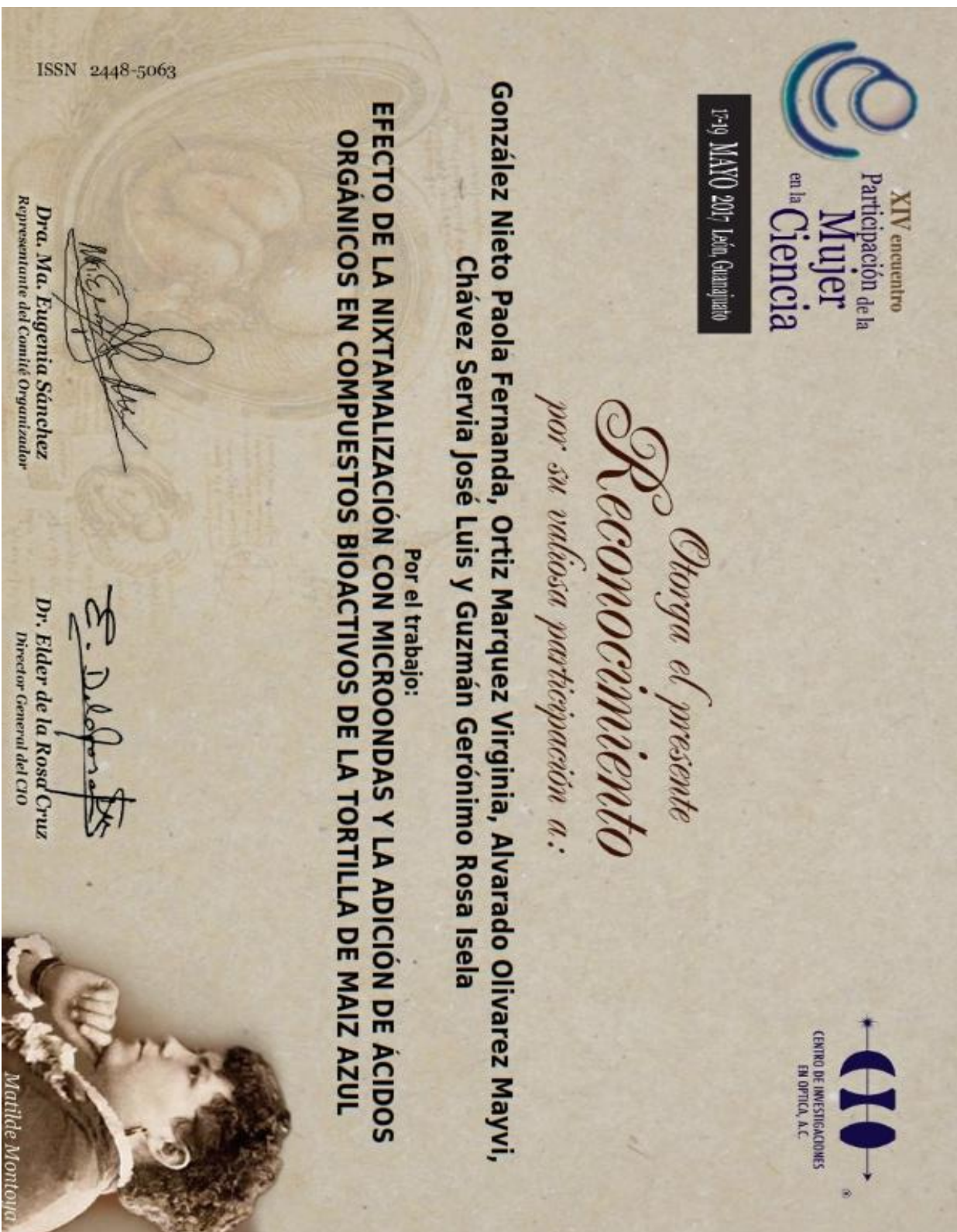


Figura 34. Constancia de presentación a congreso

22

CURSO INTERNACIONAL

Bases Biológicas de la Conducta

Otorga la presente

C O N S T A N C I A

A Paola Fernanda González Nieto, Virginia Ortiz Marquez, Mayvi Alvarado Olivarez, Jose Luis Chavez Servia y Rosa Tisela Guzmán Gerónimo

Por su participación con el cartel *El Rol de los Acidos Orgánicos En La Mixtamalización De La Tortilla Azul Sobre El Desarrollo Del Giro Dentado En La Etapa Fetal De La Rata*

XXII Curso Internacional Bases Biológicas de la Conducta
 Impartido del 3 al 6 de Octubre, con una duración de 40 horas.
 Tlaxcala, Tax.; a 6 de Octubre de 2017

Margarita Martínez Gómez
 Dña. Margarita Martínez Gómez
 Organizadora

Jorge Rodríguez Antolín
 Dr. Jorge Rodríguez Antolín.
 Organizador

CTBO
 UNAM
 GIG

Figura 35. Constancia de presentación a curso







Universidad Veracruzana

CONACYT

4to Simposio Internacional Neurotología

25 Aniversario 1993 2017
Instituto de Neurotología

COVECYDET
CONSEJO VERACRUZANO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA

Otorga la presente

CONSTANCIA a:

Paola Fernanda González Nieto, Virginia Ortiz Márquez, Mayvi Alvarado Olivarez,
José Luis Chávez Servia, Rosa Isela Guzmán Gerónimo

Por su participación como expositor del cartel:

“Los Ácidos Orgánicos En La Nixtamalización De La Tortilla Azul Influyen Sobre El Desarrollo Del Giro Dentado En La Etapa Fetal De La Rata ”

Salas de Videoconferencias USBI-Xalapa
20 de octubre de 2017, con una duración de 10 hrs


Dra. Laura Teresa Hernández Salazar
Coordinadora del Posgrado en Neurotología


M.C. Francisco García Orduña
Director del Instituto de Neurotología

Figura 36. Constancia de presentación a simposio