

El Amaranto como Fuente de Reforzamiento: Un Estudio con Roedores¹

Ivette González-Rivera, Diana Berenice Paz Trejo, Nuria Sofía Fuentes Saavedra, Erika Lorena De Lucio Padrón, David Rodríguez Silva, Paulina Torres Carrillo, Oscar Zamora Arevalo, César Casasola Castro, & Hugo Sánchez-Castillo²
Universidad Nacional Autónoma de México

Resumen

El presente estudio evalúa el amaranto como una alternativa a los reforzadores que se utilizan en la actualidad en los laboratorios experimentales con roedores. Se compararon diversos elementos como la preferencia de consumo, la motivación y el valor reforzante entre tres tipos de alimentos (dos tipos de pellets y amaranto) mediante cuatro experimentos con laberinto radial y consumo libre en 11 ratas de la cepa Wistar. Los resultados muestran que el amaranto tiene un alto valor reforzante ya que, se observó preferencia por su consumo comparado con los demás alimentos. Se propone al amaranto como una buena alternativa para usarse como reforzador con varias ventajas como la preferencia de consumo, su valor reforzante, su fácil accesibilidad en el país y que es más económico que los pellets importados.

Palabras Clave: Amaranto, Reforzadores, Laberinto Radial, Recompensa, Pellets

Amaranth as Reinforcement Source: A Rodent Study

Abstract

This study evaluates amaranth as an alternative to reinforcers which are currently used in experimental laboratories with rodents. We compared some elements such as consumer preference, motivation and reinforcing value of three types of food (two types of pellets and amaranth) through four experiments with free radial maze and free consumption in 11 Wistar rats. The results show that amaranth has a high reinforcing value. Also, there was a preference for amaranth consumption compared with the other two reinforcers. Amaranth is proposed as a good alternative for use as a reinforcer with several advantages such as consumer preference, its reinforcing value, accessibility in the country and that it is cheaper than the usual pellets.

Keywords: Amaranth, Reinforcers, Radial Maze, Reward, Pellets

Original recibido / Original received: 28/11/2014

Aceptado / Accepted: 25/04/2015

¹ Apoyado por: DGAPA IN302512

² Dr. Hugo Sánchez Castillo, Av. Universidad 3000, Col. Copilco Universidad, Facultad de Psicología, 1er piso edificio B, cubículo B001, Laboratorio de Neuropsicofarmacología y estimación temporal, C.P. 04510, Delegación Coyoacán, México, Distrito Federal, México. 04455-38-76-68-76 ó 56-22-22-30, correo electrónico: ajuscoman@gmail.com

Comúnmente se ha descrito que el alimento es un reforzador primario ya que su uso para motivar el comportamiento no requiere de aprendizaje. El valor de refuerzo de los alimentos, medido por lo que se está dispuesto a trabajar para obtenerlos, está afectado por la palatabilidad de los alimentos, la privación de alimento, y la variedad de ellos (Epstein & Leddy, 2005).

Una de las consideraciones que se debe tomar en cuenta al evaluar un reforzador es la saciedad que éste provoca en los animales de laboratorio. Ésta puede estar influenciada por las características de los alimentos, lo que incluye no sólo la accesibilidad y la composición nutricional, sino también el olor y el sabor de la comida, incluso el color (Ahn & Phillips, 2012). De hecho, una cualidad única de los alimentos recompensa es su fuerte modulación por estas señales palatabilidad (Saper, Chou, & Elmquist, 2002). Al igual que los primates, las ratas suelen preferir los alimentos que son dulces (normalmente indicativos de alto contenido calórico) y evitar los que son amargos o agrios (normalmente indicativos de toxicidad, inmadurez o deterioro) (Rozin & Schulkin, 1990 en Ishii, Blundell, Halford, & Rodgers, 2003, p. 38).

En estudios con procedimientos operantes, una hipótesis sugiere que la disminución de la respuesta operante está relacionada con variables de saciedad, tales como, la liberación de colecistoquinina, la glucosa en sangre, o distensión del estómago (Ishii et al., 2003; De Graaf, Blom, Smeets, Stafleu, & Hendriks, 2004). De igual forma, hay que tener presente si los animales tienen o no acceso *ad libitum* a agua y alimento (Lupfer-Johnson, Murphy, Blackwell, LaCasse, & Drummond, 2010).

El amaranto

El amaranto (*Amaranthus Hypochondriacus*) es una planta originaria de México, las zonas de producción y cultivo de amaranto en México son múltiples, lo que lo convierte en un grano de fácil acceso y bajo precio en el país (Asociación Mexicana del Amaranto A.C., 2010).

El amaranto es un producto de origen vegetal, el componente principal de la semilla del amaranto es el almidón, representando entre 50 y 60% de su peso seco. Esta semilla es también una fuente importante de proteínas ya que el contenido proteico de este grano oscila entre el 13.2 y el 18.2% de su peso, conteniendo el doble de proteína que el maíz y el arroz, y 60 a 80 % más comparado con el trigo (Gorinstein, Delgado-Licon, Pawelzik, Permady, Weisz, & Trakhtenberg, 2001). Así mismo es fuente de ácido fólico, niacina, calcio, hierro, fósforo y vitaminas como A, B, C, B1, B2 y B3 siendo también un alimento con gran cantidad de aminoácidos como la lisina (Chatuverdi, Sarojini, & Devi, 1993; Paredes, 1994).

Entre las acciones benéficas que tiene el amaranto destacan que las pequeñas semillas contienen niveles considerables de proteínas de alta calidad y bajos niveles de ácidos grasos saturados en la fracción de aceite. Además de su alto valor nutritivo, el grano de amaranto tiene un importante efecto hipocolesterolémico en roedores (Berger, Monnard, Dionisi, Gumy, Lambelet, & Hayes, 2003; Ferreira, Matías, & Arêas de 2007 en Mendonça, Saldiva, Cruz, & Arêas, 2009, p. 738; Plate & Arêas, 2002). Por ejemplo, en el estudio que

realizaron Escudero, Zirulnik, Gomez, Mucciarelli y Giménes (2006) encontraron que ratas con una dieta de amaranto decrementaron sus niveles de triglicéridos y colesterol en el hígado al mismo tiempo que incrementó la cantidad de lípidos y colesterol excretados por medio de las heces comparado con una dieta de caseína. Otro estudio muy similar realizado por Mendonça et al. (2009) reportaron un decremento en los triglicéridos y el colesterol en sangre y heces de ratas con dieta de amaranto y caseína más amaranto comparado con una dieta sólo a base de caseína. Además el estudio realizado por Chatuverdi et al. (1993) reporta una disminución de lípidos, triglicéridos, fosfolípidos, colesterol total y colesterol HDL en sangre e hígado, además de una apariencia estructural normal en el hígado en ratas con una dieta hipercolesterolémica adicionada con el consumo de amaranto o bengelgram, comparados con una dieta hipercolesterolémica solamente.

Así mismo, se ha encontrado que la administración de las semillas de amaranto reduce la peroxidación de los lípidos y mejora la actividad de las enzimas antioxidantes en plasma y órganos. En ratas alimentadas con semillas de amaranto, el sistema antioxidante de plasma, así como de algunos órganos, especialmente el corazón y los pulmones, es más eficiente (Escudero et al., 2006; Paško, Bartón, Zagrodzki, Chlopicka, Izewska, Gawlik, Gawlik, & Gorinstein, 2011). Dichas semillas antiguas de pseudocereal son capaces de reducir el estrés oxidativo, y mejorar el sistema de protección enzimática antioxidante, que puede ayudar a aliviar la generación de radicales libres durante varios estados patológicos (Paško et al., 2011).

Son pocas las investigaciones que se han realizado respecto a la evaluación del amaranto como una alternativa a los pellets tradicionales utilizados como reforzadores en los laboratorios experimentales con roedores. Sin embargo los hallazgos sugieren que el amaranto puede ser utilizado como reforzador al igual que los pellets reforzadores utilizados en los laboratorios. Un estudio (Cabrera, Robayo-Castro, & Cobarrubias, 2010) que compara el amaranto y las noyas de pellets que se usan como reforzadores, mediante un programa operante de razón progresiva, demuestra que las tasas de carrera son muy semejantes entre los dos alimentos.

Con el objetivo de evaluar al amaranto como una alternativa de reforzador en los laboratorios experimentales con roedores se diseñó un experimento de cuatro fases que contemplan la evaluación de diversos elementos como la saciedad, la preferencia de consumo y la motivación para trabajar por tres distintos tipos de alimentos a comparar: el amaranto, los pellets que se usan de alimento diario para las ratas, y los pellets que se usan comúnmente como reforzadores.

Para la evaluación experimental del valor reforzante de los estímulos, existen diversos paradigmas experimentales que permiten comparar la preferencia de los sujetos hacia diferentes estímulos, a partir de lo cual, se pueden hacer inferencias acerca de las propiedades reforzantes de los mismos (Lappalainen & Epstein, 1990). Entre dichos paradigmas se encuentra el Condicionamiento de Preferencia de Lugar (CPP por sus siglas en inglés: *Conditioned Place Preference*) basado en el proceso de memoria de contexto (Capaldi & Neath, 1995). El instrumento que se utiliza para este procedimiento consiste generalmente en una caja dividida en tres compartimentos, dos de

dimensiones idénticas y un tercero de menor tamaño. Los dos compartimentos más grandes difieren solamente en el contexto y cada uno es asociado a estímulos diferentes, generalmente a drogas de abuso. El procedimiento, a grandes rasgos, consiste en una fase de entrenamiento donde se confina al sujeto bajo los efectos de la droga en uno de los compartimentos, posteriormente, en la fase de evaluación se da al organismo libre acceso a ambas cámaras y se mide el tiempo que pasa en cada una de ellas. El índice de preferencia por alguno de los dos estímulos se obtiene a partir de la cantidad de tiempo que el organismo pasa, en la fase de evaluación, en el compartimento al que el estímulo fue asociado (Wooters, Walton, & Bardo, 2010). En el presente experimento se utilizó el principio de preferencia de lugar de este paradigma experimental, pero evaluado en un laberinto radial-contextual, en el que cada brazo estaba asociado a un contexto y estímulo diferente.

En la conducta de búsqueda de alimento, la memoria de referencia y de trabajo son mecanismos básicos que permiten ahorrar energía al organismo al encontrar el alimento. La memoria de referencia permite que el animal identifique los estímulos existentes en el arreglo ambiental que indican lugares de abundancia o de escasez de recursos, mientras que la memoria de trabajo permite identificar las fuentes de alimento (Cabrera, 2009). Uno de los instrumentos utilizados para evaluar la memoria es el laberinto de brazos radiales, el cual ha sido usado principalmente para evaluar memoria espacial (Hodges, 1995), En la presente investigación se usó un laberinto radial modificado con diversos patrones dentro de cada brazo con el fin de que los animales se guíen por estímulos locales dentro del laberinto.

Método

Sujetos

Se usaron 11 ratas macho de la cepa Wistar de un peso promedio de 385 g y edad aproximada de 6 meses al inicio del experimento. Los sujetos se encontraban alojados en cajas compartidas de policarbonato en grupos de cuatro. El consumo de agua fue *ad libitum* y el acceso al alimento se restringió a una hora por día. La temperatura y humedad se encontraban reguladas y se mantuvo un ciclo de luz-oscuridad de 12 horas.

Materiales e Instrumentos

El experimento fue dividido en 4 fases con el fin de evaluar más puntualmente las propiedades del amaranto como reforzador. Para las fases 1 a 3 del experimento se utilizaron dos laberintos radiales de madera de pino con seis brazos (desmontables de 85 cm x 11 cm x 16 cm). Cinco de los brazos poseían patrones y texturas diversas en las paredes que denotaban un contexto distinto, al final de cada brazo se encontraba un contenedor para el reforzador de 2 cm de diámetro. El sexto brazo carecía de las características contextuales descritas anteriormente (liso). La plataforma central tenía un diámetro de 16 cm. y contaba con puertas desmontables de acrílico transparente para restringir la entrada los

brazos del laberinto. Los brazos y la plataforma del laberinto fueron cubiertos con acrílico translúcido para disminuir la estimulación del exterior del laberinto.

Para la fase 4 del experimento se utilizaron cuatro cajas de policarbonato que contenían recipientes con tres divisiones equidistantes en donde se colocaron los diferentes tipos de alimento.

Los alimentos que se utilizaron fueron el amaranto (en granos sueltos), noyas de pellet (utilizados como reforzadores en cajas operantes (Noyes Inc. Co.), y pellet chow (utilizados como alimento diario para roedores (Bioserv, USA)).

Procedimiento

Previo al inicio del experimento, se expusieron el amaranto, las noyas de pellet (Noyes Inc. Co.) y a los pellets chow (Bioserv) a todos los sujetos durante dos sesiones, para prevenir la neofobia a los alimentos antes mencionados. Igualmente se realizó una exposición de reconocimiento a los laberintos radiales que se utilizaron donde se les permitió a los sujetos explorar durante dos sesiones previas al inicio del experimento. Posterior a ello se dio inicio a las 4 fases del experimento.

Fase 1. Indicador inicial de preferencia en el laberinto radial

Se realizó una sesión de 10 ensayos cada una durante 15 días (cinco días por semana). Cada sesión consistió en el pareamiento de un brazo del laberinto con un tipo de alimento en una tarea de elección forzada. Para ello, en cada sesión se cerró el acceso a 4 de los brazos, dejando libre acceso sólo al brazo que sería asociado a alguno de los alimentos. El brazo que no poseía contexto fue considerado el brazo de entrada al laberinto. El orden en que fueron pareados los distintos tipos de alimentos con los contextos de cada brazo del laberinto fue aleatorio, así mismo se varió aleatoriamente el orden de los brazos en el laberinto para disminuir efectos de aprendizaje espacial y motor.

Al inicio de cada ensayo la rata se colocaba en el brazo liso, o brazo de entrada. Los datos registrados fueron el tiempo que transcurría desde el inicio del ensayo, cuando se colocaba a la rata en el brazo de entrada, hasta que se llegaba al contenedor del alimento, a partir de ese momento se le daban 5 segundos para el consumo del alimento que no fueron tomados en cuenta para el registro.

Este experimento evaluó el tiempo transcurrido para la llegada a cada alimento, como un indicador inicial de preferencia.

Una vez que los sujetos aprendieron la tarea de esta fase se prosiguió con las siguientes fases experimentales.

Fase 2. Preferencia de lugar en el laberinto radial

Esta fase constó de una sesión de 15 minutos en donde se dio a los sujetos acceso libre a todos los brazos contextualizados del laberinto. Durante esta fase no hubo acceso a los alimentos al final de cada brazo. Los animales fueron colocados en la plataforma central y con un cronómetro se registraron los tiempos que permanecían en cada brazo y el número de entradas en los mismos. Para

considerarse como una entrada la rata tenía que estar de frente a la entrada del brazo y con la mitad de su cuerpo dentro del mismo.

Esta fase evaluó el valor reforzante de los alimentos reflejado en el tiempo de permanencia y con el número de entradas en cada brazo pareado particularmente con un tipo de alimento.

Fase 3. Prueba de elección en el laberinto radial

Esta fase estuvo compuesta por una sesión de diez ensayos en los que se le dio a los sujetos libre acceso a todos los brazos contextualizados del laberinto, el orden de los brazos fue cambiado aleatoriamente entre cada ensayo. En cada ensayo uno de los tres alimentos se encontraba al final del brazo con el contexto asociado en la fase 1 (ej. Amaranto-asociado al brazo con líneas horizontales; pellet chow-asociado al brazo con líneas verticales; noyas de pellet -asociado al brazo con cuadrados). Se dio por terminado el ensayo cuando el sujeto entraba a un brazo y consumía el alimento. En cada ensayo se registró el número de visitas a los brazos asociados con cada tipo de alimento.

Esta fase evaluó la preferencia de consumo explicado por la elección del brazo asociado a un alimento en particular en lugar de otro, ya que se tenía la posibilidad de elegir uno sólo de los alimentos en cada ensayo.

Fase 4. Prueba de consumo

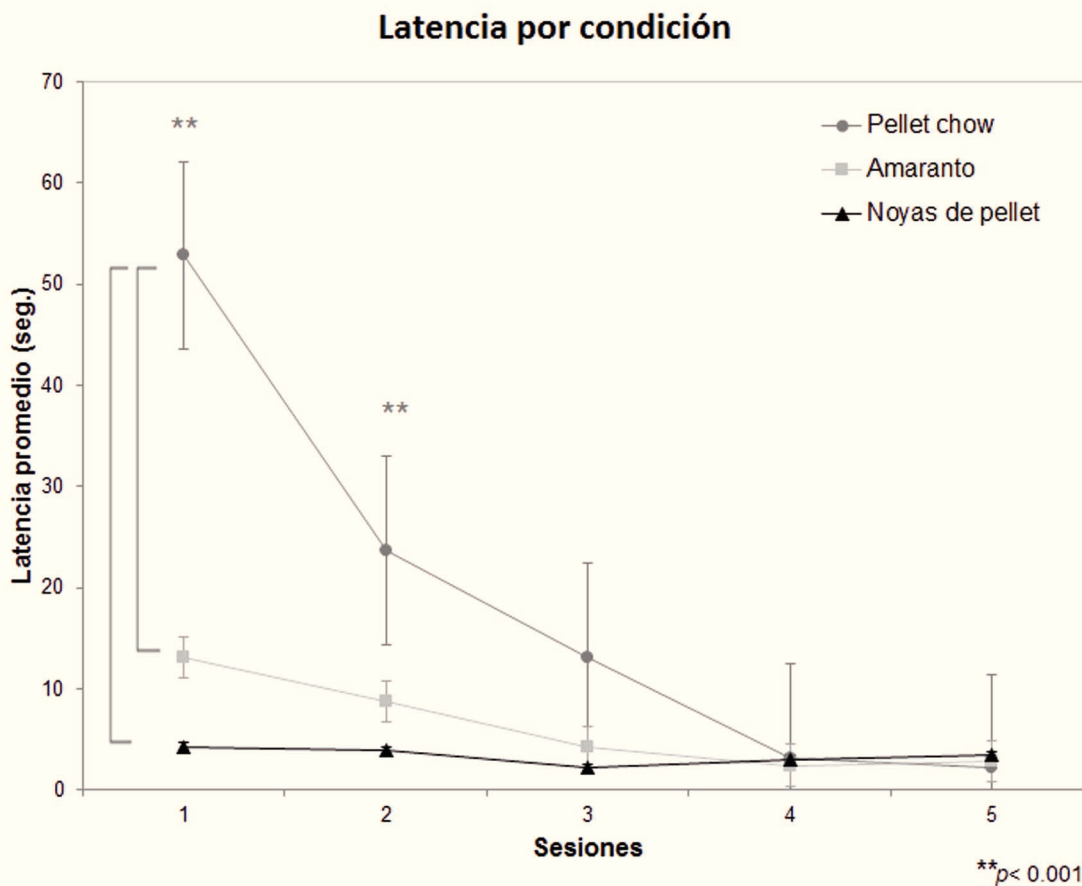
Durante todo el presente estudio, las ratas estuvieron privadas de alimento 23 horas al día, y durante su hora de comida fueron alimentadas con pellets chow (Bioserv), ya que son el alimento habitual. Esta disponibilidad de los pellets chow pudo significar alguna interferencia en los resultados experimentales, por lo que en esta última prueba, hubo 15 sesiones en las que, durante la hora de alimentar a los animales, se les presentaron los tres alimentos *ad libitum* y simultáneamente con el propósito de que todos los alimentos tuvieran la misma disponibilidad y familiaridad.

Se probó el consumo de cada alimento en dos condiciones, antes de las 15 sesiones de consumo libre de los alimentos, y después de esta exposición. La prueba consistió en colocar 50 gramos de cada uno de los alimentos (amaranto, noyas de pellet y pellets chow) en recipientes con divisiones equidistantes dentro de cajas de policarbonato y luego se introdujo a los sujetos a las cajas de policarbonato de manera que pudieran consumir cualquiera de los tres alimentos durante 30 minutos. Todos los alimentos fueron pesados al inicio y al final de la prueba, de forma que al final se obtuviera el consumo total en gramos de cada uno. Puesto que este procedimiento se realizó al inicio y al término de las 15 sesiones de consumo libre, se obtuvo el consumo de cada alimento antes y después.

Resultados

El primer análisis se realizó con el fin de comparar las latencias promedio para cada uno de los reforzadores a lo largo de las sesiones. Los resultados se

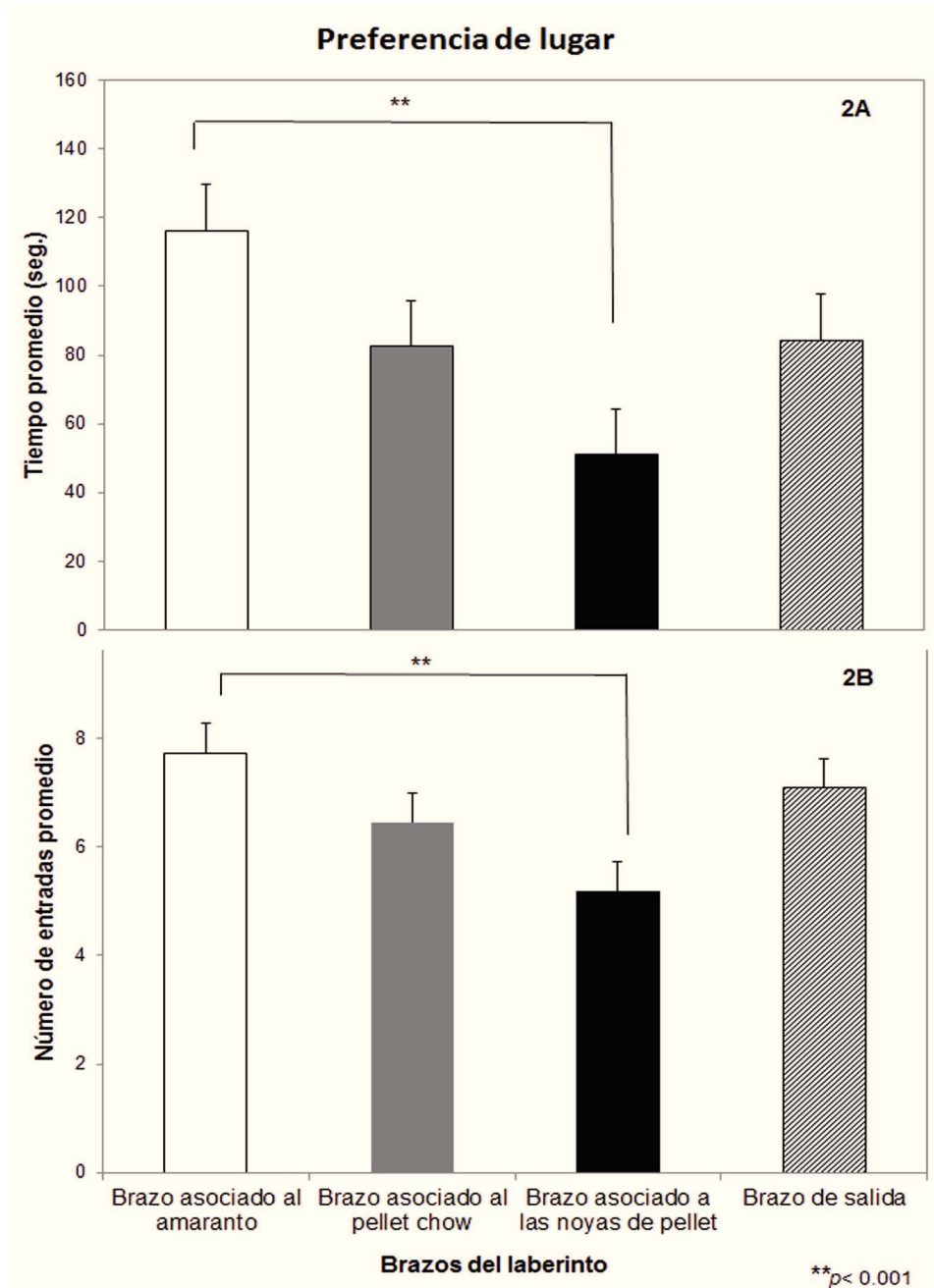
presentan en la Gráfica 1. Se realizó un ANOVA de dos vías (sesiones x tipo de reforzador) que mostró diferencias estadísticamente significativas en las latencias a lo largo de las sesiones para los reforzadores ($F [8, 164]=5.765, p<0.001$). Posteriormente se realizó un análisis post hoc con la prueba Tukey que mostró diferencias estadísticamente significativas en las latencias obtenidas para el Pellet chow contra las de las noyas de pellets y las latencias para el Pellet chow contra las latencias para el Amaranto en las primeras dos sesiones (ver Gráfica 1).



Gráfica 1. Promedio de las latencias a lo largo de las sesiones para los tres tipos de reforzadores.

Con el fin de determinar la preferencia de lugar de los sujetos para cada uno de los brazos del laberinto asociados a los reforzadores, se analizó el tiempo de permanencia y el número de entradas a cada brazo del laberinto. Cada variable fue analizada por separado con un ANOVA de una vía.

El análisis realizado para las latencias mostró diferencias estadísticamente significativas ($F[2,32]=8.617, p < 0.001$) en el tiempo de permanencia para los diferentes brazos del laberinto. El análisis a posteriori con el test de Tukey, reveló que solo la condición amaranto vs noyas de pellet— fue estadísticamente significativa. Los resultados se muestran en la Gráfica 2A.

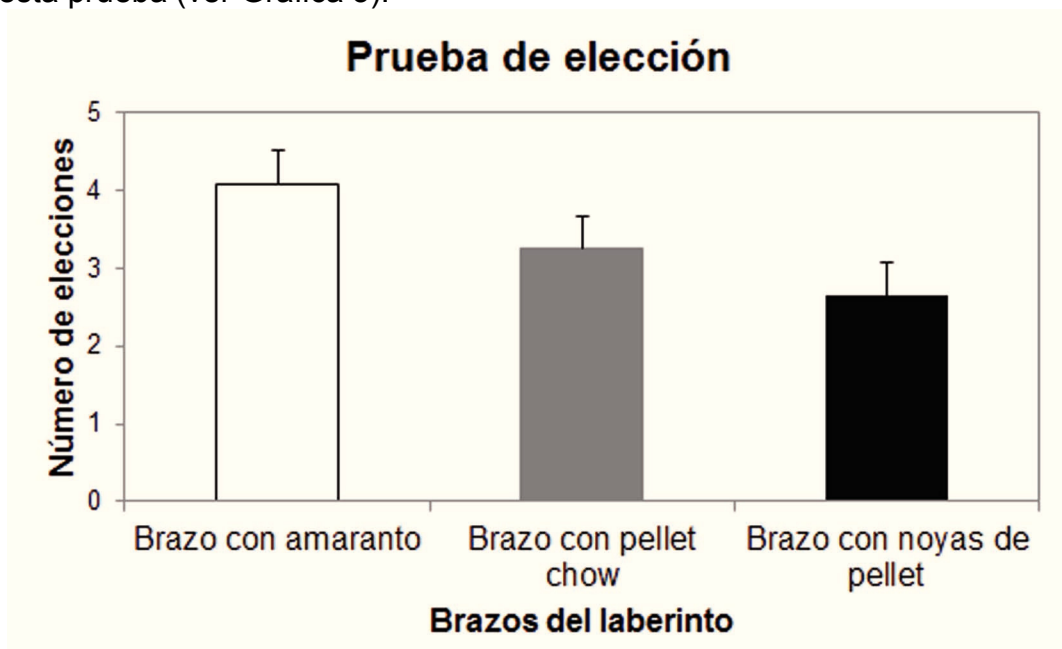


Gráfica 2. Tiempo de permanencia (2A) y número de entradas (2B) a los brazos del laberinto asociados a cada tipo de alimento durante la prueba de preferencia de lugar.

El ANOVA de una vía realizado para el número de entradas mostró diferencias estadísticamente significativas en el número de entradas para cada brazo asociado a los reforzadores ($F[2,32]=8.829$, $p<0.001$). Nuevamente, el análisis a posteriori con el test de Tukey mostró que las diferencias estadísticamente significativas solo fueron entre la condición amaranto vs noyas de pellet. Los resultados se muestran en la Gráfica 2B (ver Grafica 2).

Para el análisis correspondiente a la prueba de elección, se analizó el número de veces que los sujetos entraron a cada brazo asociado a los

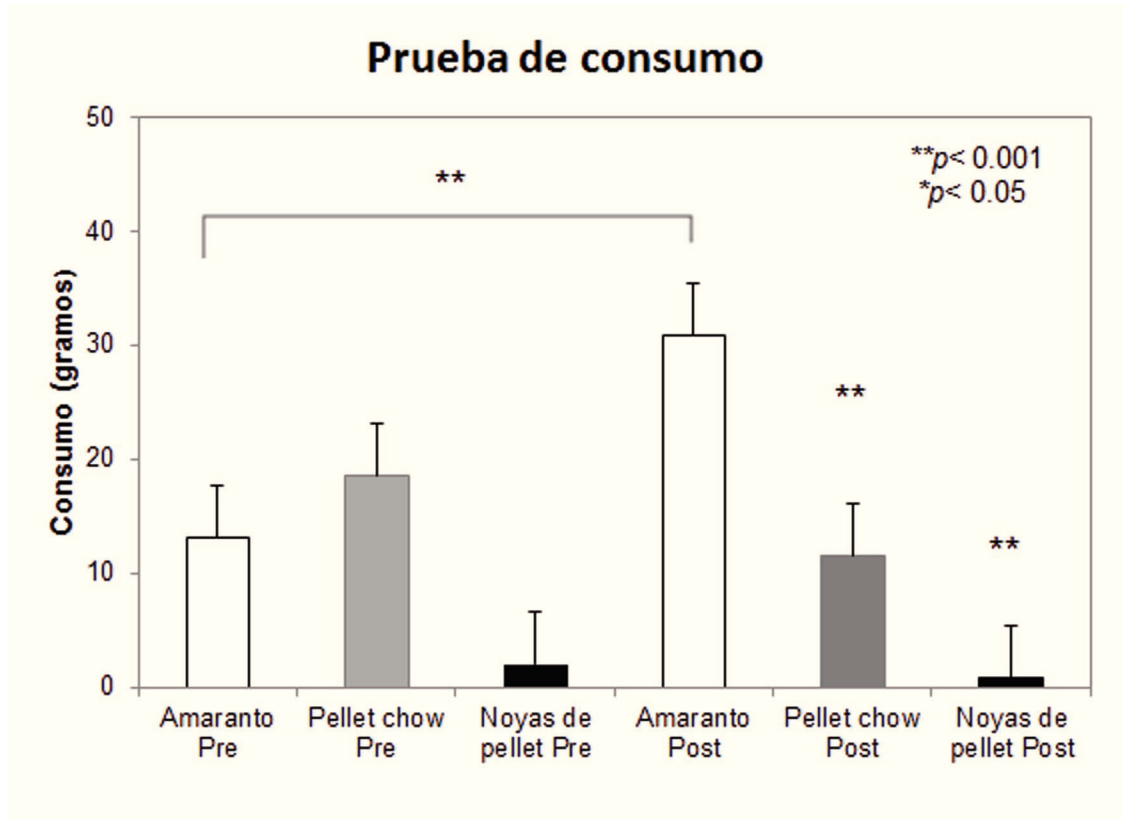
reforzadores para consumirlos. Se realizó un ANOVA de una vía que no mostró diferencias estadísticamente significativas (*NS*) entre el número de elecciones de cada reforzador ($F[2,32]=2.16, p>0.05$). Sin embargo, se observa una tendencia de los sujetos por consumir el amaranto y el pellet chow sobre las noyas de pellet en esta prueba (ver Gráfica 3).



Gráfica 3. Número de elecciones a cada brazo para consumir el reforzador disponible en el mismo.

Finalmente, se comparó el consumo total de cada alimento (amaranto; noyas de pellet; pellet chow) en las dos condiciones de la fase 4 (pre exposición y post exposición). Se realizó un ANOVA de dos vías (tipo de alimento x condición) para comparar en el consumo entre los diferentes grupos.

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el consumo de los alimentos en cada sesión ($F[2,39]=25.574, p<0.001$) como en la interacción de la condición con el alimento ($F[2,44]=9.727, p < 0.001$). El análisis post hoc con el test de Tukey reveló que, durante la condición pre exposición, el pellet chow obtuvo diferencias significativas con respecto al consumo de amaranto, pero durante la condición post exposición, tanto las noyas de pellet como el pellet chow fueron estadísticamente distintos al ser comparados contra el consumo de amaranto. También se observó que el amaranto en su condición pre y post obtuvo diferencias estadísticamente significativas (ver Gráfica 4).



Gráfica 4. Consumo de cada alimento antes y después de las sesiones de consumo libre en la fase

Discusión y conclusiones

La preferencia inicial mostrada por las latencias cortas y similares tanto para el amaranto y las noyas de pellet desde las primeras sesiones, indica que el amaranto puede igualar el valor reforzante de los pellets que comúnmente se usan en los laboratorios ya que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las latencias para estos dos alimentos.

Del mismo modo, ya que el valor reforzante de un estímulo puede ser reflejado en el tiempo de permanencia del sujeto en el lugar asociado a dicho estímulo (Wooters et al., 2010), el que el número de entradas y el tiempo de permanencia en los brazos pareados con el amaranto fuera mayor y estadísticamente significativo con respecto a los brazos pareados con las noyas de pellet puede indicar que el amaranto tiene un alto valor reforzante, incluso mayor que las noyas de pellet.

Por otra parte, aunque no se hallaron diferencias estadísticamente significativas en la prueba de elección, se observa una tendencia a la elección de los brazos del laberinto que contenían el amaranto y el pellet chow.

La tendencia a elegir los brazos asociados al pellet chow en la fase de elección es contraria a las primeras fases del experimento, y puede deberse a la

mayor familiaridad y disponibilidad del pellet chow, ya que las ratas fueron alimentadas diariamente con el (Bioserv).

Sin embargo, el diseño de la fase 4 permitió controlar el efecto de la disponibilidad al obtener la preferencia de consumo para cada uno de los alimentos cuando los sujetos los tienen disponibles en la misma cantidad y sin tener que trabajar para obtenerlos, con lo que se puede inferir que su elección en esta última fase se basó en factores como la palatabilidad y la saciedad que produce el alimento. Los resultados pueden indicar que el sabor y la saciedad que produce el amaranto favorecen su consumo sobre los otros dos alimentos ya que se obtuvo un consumo mayor y estadísticamente significativo del amaranto sobre los otros alimentos en la post evaluación.

Estos dos factores, la palatabilidad y la saciedad, pueden ser factores determinantes en el consumo del amaranto por los sujetos experimentales. Por su sabor dulce y su alta composición nutricional parece ser un alimento ligero que puede consumirse de manera más prolongada sin llegar a saciarse (Berger et al., 2003; Saper et al., 2002), lo que permitiría usarlo como reforzador en sesiones experimentales más largas al disminuir un efecto de decremento en la motivación por saciedad.

Sin embargo, de acuerdo con Cabrera et al. (2010) se debe tener en consideración la forma de presentación del amaranto ante los roedores (ej. en granos o tableta) ya que los resultados podrían verse mejorados ante un "pellet" de amaranto que ante los granos sueltos, debido a una cuestión de familiaridad con la presentación del alimento en forma de pellets y a su consumo de forma más rápida y fácil. Además el presentar el amaranto en forma de pellet facilitaría el dispensarlo tanto en cajas operantes como en las cajas vivienda.

Finalmente, cabe señalar que el uso del amaranto como reforzador tiene otras ventajas sobre los pellets que se utilizan regularmente ya que es más económico que los pellets usuales, contiene un importante valor nutricional y es más accesible en muchos lugares del país.

Referencias

- Ahn, S. & Phillips, A. G. (2012) Repeated cycles of restricted food intake and binge feeding disrupt sensory-specific satiety in the rat. *Behavioural Brain Research* 231: 279-285.
- Asociación Mexicana del Amarantho A.C., 2010
- Berger, A., Monnard, I., Dionisi, F., Gumy, D., Lambelet, P., & Hayes, K. C. (2003). Preparation of amaranth flakes, crude oils, and refined oils for evaluation of cholesterol-lowering properties in hamster. *Food Chemistry* 81: 119–124.
- Cabrera, F. (2009) Evaluando memoria de trabajo y de referencia en hámsteres dorados (*Mesocricetus auratus*): Una tarea de memoria espacial. *Revista Mexicana de Análisis de la Conducta*, 35: 117-132.
- Cabrera, F., Robayo-Castro, B. & Cobarrubias, P. (2010) The 'Huautli' alternative: Amaranth as reinforcer in operant procedures. *Revista Mexicana de Análisis de la Conducta* 36: 71-96.

- Capaldi, E. J. & Neath, I. (1995) Remembering and forgetting as context discrimination. *Learning and Memory* 2: 107-132.
- Chatuverdi, A., Sarojini, G. & Devi, N. L. (1993). Hypocholesterolemic effect of amaranth seeds (*Amaranthus exculantus*). *Plant Foods for Human Nutrition*, 44: 63-70.
- De Graaf, C., Blom, W. A., Smeets, P. A., Stafleu, A. & Hendriks, H. F. (2004) Biomarkers of satiation and satiety. *American Journal of Clinical Nutrition* 79: 946-961.
- Epstein, L. H. & Leddy J. J. (2005) Food reinforcement. *Appetite* 46: 22-25.
- Escudero, N.L., Zirulnik, F., Gomez, N. N., Mucciarelli S. I., & Giménes, M.S. (2006). Influence of a protein concentrate from *Amaranthus cruentus* seeds on lipid metabolism. *Experimental Biology and Medicine*, 231, 50-59.
- Gorinstein, S., Delgado-Licon, E., Pawelzik, E., Permady, H.H., Weisz, M. & Trakhtenberg, S. (2001) Characterization of soluble amaranth and soybean proteins based on fluorescence, hydrophobicity, electrophoresis, amino Acid analysis, circular dichroism, and differential scanning calorimetry measurements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49(11): 5595-601.
- Hodges, H. (1995) Maze procedures: the radial-arm and water maze compared. *Cognitive Brain Research* 3: 167-181.
- Ishii, Y., Blundell, J. E., Halford, J. C. G. & Rodgers, R. J. (2003) Palatability, food intake and the behavioural satiety sequence in male rats. *Physiology & Behavior* 80: 37- 47.
- Lappalainen, R., & Epstein, L. H. (1990). A behavioral economics analysis of food choice in humans. *Appetite* 14: 81-93.
- Lupfer-Johnson, G., Murphy, E. S., Blackwell, L. C., LaCasse, J. L. & Drummond, S. (2010) Operant behavior in dwarf hamsters (*Phodopus campbelli*): Effects of rate of reinforcement and reinforcer flavor variety. *Behavioural Processes* 84: 573-580.
- Mendonça, S., Saldiva, P. H., Cruz, R. J. & Arêas, J. A. G. (2009) Amaranth protein presents cholesterol-lowering effect. *Food Chemistry* 116: 738-742.
- National Academy of Science (1984) *Amaranth: Modern prospects for an Ancient Crop*. National Academy Press, Washington, D.C, 1.
- Paredes, L. O. (1994) *CRC amaranth, Biology, Chemistry, and Technology, CRC Nutritive value and chemical composition of pseudocereals as gluten-free ingredients*. Press, Boca Ratón, Ann Arbor, London.
- Plate, A. Y. & Arêas, J. A. (2002). Cholesterol-lowering effect of extruded amaranth (*Amaranthus caudatus* L.) in hypercholesterolemic rabbits. *Food Chemistry*, 76: 1-6.
- Paško, P., Bartón, H., Zagrodzki, P., Chlopicka, J. & Izewska, A. (2011) Effect of amaranth seeds in diet on oxidative status in plasma and selected tissues of high fructose-fed rats. *Food Chemistry* 126: 85-90.
- Saper, C.B., Chou, T.C. & Elmquist, J.K. (2002) The need to feed: homeostatic and hedonic control of eating. *Neuron* 36: 199- 211.
- Wooters, T., Walton, M. & Bardo, M. (2010). Oral methylphenidate establishes a conditioned place preference in rats. *Neuroscience Letters*: 40536-0509.