

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS



El Valor Biológico de Diversas Combinaciones Elaboradas a Base de Cereales y Leguminosas

(Masa de Maíz y Frijol) (Frijol y Arroz)

TESIS

PRESENTADA POR

Ana Teresa Valiente Ibarra

EN EL ACTO PUBLICO DE SU DOCTORAMIENTO

SAN SALVADOR

EL SALVADOR

CENTRO AMERICA

MAYO, 1959.

543.1
V172v
1959
F.C.C. Q.Q.
E.S. 4

061543

UES BIBLIOTECA CENTRAL

INVENTARIO: 10123122

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE EL SALVADOR

Dr. Napoleón Rodríguez Ruiz
Rector

Dr. Roberto Emilio Cuéllar Milla
Secretario General

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

Dr. Francisco González Suvillaga
Decano

Dr. Roberto A. Machado
Secretario

Los suscritos, Presidente y Vocales del Tribunal de Doctoramiento Público, nos hemos reunido en el Decanato de la Facultad de Ciencias Químicas a fin de dictaminar sobre la Tesis presentada por la Bachiller ANA TERESA VALIENTE IBARRA, intitulada "EL VALOR BIOLÓGICO DE DIVERSAS COMBINACIONES ELABORADAS A BASE DE CEREALES Y LEGUMINOSAS (MASA DE MAIZ Y FRIJOL) (ARROZ Y FRIJOL). Y encontramos que dicha Tesis SI reúne los requisitos exigidos por el Estatuto orgánico de la Universidad, la aprobamos por UNANIMIDAD de votos.

En fe de lo cual firmamos el Acta en San Salvador, a los tres días del mes de abril de mil novecientos cincuenta y nueve.

Dr. Raúl Montoya,
Presidente.

Dra. Amanda Stella de López,
Vocal

Dr. Alirio Menjívar,
Vocal.

Nosotros los abajo firmados, Presidente, Vocal y Secretario que integran el Tribunal de Examen para el Segundo Examen General Privado de doctoramiento de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. En cumplimiento del Acto que antecede admitiendo a ANA TERESA VALIENTE IBARRA a las pruebas correspondientes al Segundo Examen Privado de Doctoramiento en la expresada Facultad, nos hemos reunido hoy en el local de la Escuela de Ciencias Químicas y Farmacia para practicar dicho examen, y si habiendo contestado satisfactoriamente el sustentante las preguntas que le hemos hecho y resueltos los argumentos que le fueron propuestos, lo hemos calificado con la Nota Aprobada por UNANIMIDAD de votos.

En fe de lo cual firmamos la presente en San Salvador, a los cuatro días del mes de enero de mil novecientos cincuenta y seis.

Dr. Julio César Morán Ramírez,
Presidente.

Dr. Carlos Mata Gavidia,
Secretario.

Dr. Francisco González Suvillaga,
Vocal.

Nosotros los abajo firmados, Presidente, Vocal y Secretario que integran el Tribunal de Examen para el Primer Examen General Privado de doctoramiento de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. En cumplimiento del Acto que antecede admitiendo a ANA TERESA VALIENTE IBARRA a las pruebas correspondientes al Primer Examen Privado de Doctoramiento en la expresada Facultad, nos hemos reunido hoy en el local de la Escuela de Ciencias Químicas y Farmacia para practicar dicho examen, y si habiendo contestado satisfactoriamente el sustentante las preguntas que le hemos hecho y resueltos los argumentos que le fueron propuestos, lo hemos calificado con la Nota Aprobada por UNANIMIDAD de votos.

En fe de lo cual firmamos la presente en San Salvador, a los diez días del mes de diciembre de mil novecientos cincuenta y seis.

Dr. Luis A. Amaya,
Presidente.

Dr. Amílcar Avendaño,
Secretario.

Dr. Roberto A. Machado,
Vocal.

JURADOS :

PRIMER EXAMEN PRIVADO

DR. LUIS A. AMAYA

DR. AMILCAR AVENDAÑO

DR. ROBERTO A. MACHADO

SEGUNDO EXAMEN PRIVADO

DR. JULIO CESAR MORAN RAMIREZ

DR. CARLOS MATA GAVIDIA

DR. FRANCISCO GONZALEZ ZUVILLAGA

DOCTORAMIENTO PUBLICO

DR. RAUL MONTOYA

DRA. AMANDA STELLA C. de LOPEZ

DR. ALIRIO MENJIVAR

DEDICATORIA:

A mis padres:

*Víctor Manuel Valiente (Q.D.D.G.)
Marcela I. v. de Valiente.
Con todo amor.*

A mi hermana

*Dalila Valiente Ibarra.
Con todo mi cariño.*

A mis abuelos:

*Candelario Ibarra (Q.D.D.G.)
Isidra v. de Ibarra.
Con cariño.*

A mis maestros:

Con estimación y gratitud.

A mis compañeros y amigos:

Con mucho aprecio.

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

Presento a vuestra consideración este trabajo de Tesis, como último requisito para obtener el Título de doctor en Química y Farmacia.

Este trabajo se realizó en los Laboratorios del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), Ciudad de Guatemala, bajo la dirección del Dr. Ricardo Bresani, Jefe de la División de Química Agrícola y de Alimentos.

I N D I C E

	PAGINA
I. INTRODUCCION	21
II. REVISION DE LA LITERATURA	22
III. MATERIAL Y METODOS	23
A. Estudios Químicos	23
B. Ensayos Biológicos	24
IV. RESULTADOS	27
A. Composición Química	27
B. Contenido de Aminoácidos	27
C. Combinaciones de Masa y de Frijol Cocido	29
1. Estudios biológicos con ratas jóvenes.	
2. Experimentos de depauperación y repleción proteica realizados con ratas adultas.	
3. Análisis químico del hígado de ratas jóvenes usadas en los experimentos de crecimiento.	
4. Estudio histopatológico del hígado de ratas jóvenes sujetas a dietas elaboradas a base de masa y de frijol cocido.	
D. Combinaciones entre Arroz y Frijol cocido	32
1. Estudios de crecimiento de ratas.	
2. Estudios de depauperación y repleción proteica en ratas adultas alimentadas con dietas de frijol y arroz.	

3.	Análisis químico del hígado de ratas jóvenes usadas en el experimento de crecimiento.	
4.	Análisis histopatológico del hígado de ratas jóvenes sujetas a dietas elaboradas a base de arroz y de frijol cocido.	
E.	Suplementación con Aminoácidos	35
	Suplementación de las dietas 4 (masa y frijol) y 4-A (arroz y frijol) con aminoácidos, administradas a ratas adultas de-pauperadas de proteína.	
V.	DISCUSION	36
VI.	RESUMEN	39
VII.	RECONOCIMIENTOS	41
VIII.	REFERENCIAS	42

I. INTRODUCCION

Las numerosas encuestas nutricionales realizadas en los últimos años por el Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (I.N.C.A.P.) (11,19,20,21,22,47,53,54) en la zona centroamericana, así como los diversos informes de estudios sobre nutrición llevados a cabo en otras partes del mundo (40), han demostrado que el maíz es un cereal de suma importancia en la alimentación humana. Tales informes indican que en aquellas regiones en donde el maíz constituye la parte principal de la dieta, es prevalente la desnutrición proteica en los niños, desarrollándose enfermedades nutricionales como el Síndrome de Pluricarencia Infantil o Kwashiorkor. En el área de Centro América y en otros países latinoamericanos, el maíz se consume en la dieta humana en forma de tortilla y contribuye con, aproximadamente, un 64% de la ingesta proteica diaria. Diversos estudios han demostrado que, en general, la tortilla, en comparación con el maíz crudo, produce mejor crecimiento en las ratas (36,37,56). Sin embargo, a pesar de que desde el punto de vista de la nutrición el maíz mejora al prepararlo en forma de tortilla, ésta todavía adolece de ciertas deficiencias, sobre todo de los aminoácidos esenciales; tales deficiencias se deben corregir a fin de permitir que las poblaciones que lo consumen tengan una mejor utilización del maíz en su alimentación diaria.

Otro cereal de bastante consumo en los países de la América Central así como en otras partes del mundo, es el arroz. En forma parecida al maíz, aunque en menor grado, sus proteínas son deficientes en aminoácidos esenciales, y para que el arroz constituya un mejor alimento en la nutrición humana, tales deficiencias deben ser corregidas.

Entre las semillas leguminosas, el frijol es el alimento que más se consume en las zonas ya mencionadas. Este contribuye con un promedio del 25% de la ingesta proteica diaria. El frijol se considera como fuente concentrada de calorías y de proteínas. En las regiones donde las proteínas de origen animal son escasas y de alto costo económico, la semejanza general de la composición de aminoácidos esenciales del frijol con la de la carne, hace de las proteínas de esta semilla un complemento natural de las de los cereales.

Debido a la gran importancia nutricional que tienen el maíz, el arroz y el frijol, según se ha mencionado en los párrafos anteriores, y por no conocerse las combinaciones óptimas entre ellos en lo que respecta a la complementación de sus proteínas, especialmente en lo que se refiere a un mejor balance de los aminoácidos esenciales, se decidió realizar una serie de investigaciones con el fin de estudiar hasta qué grado era posible mejorar la calidad de las proteínas de los dos cereales complementándolas con las del frijol. Era de esperar que la información a derivarse de estos estudios demostraría ser de mucho valor e importancia, proporcionando una base sólida de experimentación para hacer las recomendaciones más adecuadas en lo que respecta a las proporciones óptimas en que deben mezclarse los alimentos, tema de esta investigación, para la mejor nutrición de los niños y de los adultos en general.

Los experimentos se llevaron a cabo, tanto en el laboratorio químico como en el de experimentación animal, tratándose de determinar las combinaciones proteicas óptimas entre el maíz en forma de masa y el frijol cocido, así como entre el arroz y el frijol cocido. La evalua-

En los últimos años se ha estudiado en detalle el valor biológico de las proteínas de las leguminosas, en particular las del frijol, debido a la importancia que estas semillas puedan tener en la alimentación humana, en especial en las regiones donde la proteína de origen animal es escasa o de alto costo. La evaluación proteica de estas semillas se ha realizado tanto por medio de la composición de aminoácidos esenciales, como valiéndose de estudios biológicos. El frijol contiene mayor cantidad de proteínas que los cereales (60), las que tienen un alto contenido de lisina aunque son deficientes en metionina y en cistina (4,6,33,49,60). Las proteínas de los cereales maíz y arroz son de bajo contenido de lisina y tienen valores aceptables de metionina y de cistina. Por consiguiente, ambos alimentos deben necesariamente complementarse en su valor proteico.

En estudios nutricionales realizados con ratas, Baptist (4,5) encontró que las dietas elaboradas a base de un cereal y de una leguminosa mantenían un buen crecimiento en los animales, parecido al que producía la ración de manutención de la colonia de animales utilizada por dicho investigador. En un reciente informe procedente de Rusia (61) se describen diferentes mezclas de cereales y de leguminosas que resultaron tener un alto valor nutritivo. La mejor combinación, según se notificó, fue la compuesta de 60% de trigo sarraceno, 20% de frijol de soya y 16% de arroz. Desikachar, Sankaran y Subrahmanyam (15) y Phansalkar y Patwardhan (46) demostraron que por medio del agregado de semillas de leguminosas, se podía obtener un mejoramiento del valor nutritivo de los cereales al ser administrados a ratas en dietas combinadas.

III. MATERIAL Y METODOS

A. ESTUDIOS QUIMICOS

Para la realización de los estudios químicos y biológicos se usaron alrededor de 100 libras de maíz, 100 de arroz y 100 de frijol negro.

El maíz, procedente de las tierras altas de Guatemala, se preparó en forma de masa siguiendo para ello el método corriente usado para la elaboración de las tortillas según lo han descrito Bressani, Paz y Paz y Scrimshaw (7).

El frijol negro se obtuvo de Tecpán, Guatemala, y para la preparación del frijol cocido se pesaron 1,000 gramos de frijol crudo limpio, agregándosele agua hasta 3 cm. por arriba del nivel del grano (1.8 a 2 litros de agua por kg. de frijol). Luego se cubrió el recipiente para cocinar el frijol, lo que se hizo en el autoclave, durante una hora, a 16 libras de presión y a 121° C. A continuación el frijol ya cocido se secó bajo corriente de aire caliente a 80° C. y se molió a un grueso de 40 mallas en un molino Wiley. La harina fue envasada en frascos de vidrio y almacenada a 4° C.

La muestra de arroz se obtuvo de un beneficio de Guatemala, en la forma de grano pulido que se usa comúnmente en la alimentación. Al igual que la masa de maíz y que el frijol (crudo o cocido), el arroz fue molido a 40 mallas en el molino Wiley, almacenándose la harina en el cuarto refrigerado a 4° C.

Los materiales mencionados (maíz crudo, masa de maíz, frijol crudo y cocido y arroz crudo) se analizaron para determinar su contenido de humedad, de extracto etéreo (grasa), de fibra cruda, de cenizas y de nitrógeno, empleándose para ello los métodos de la A.O.A.C. (2). Los resultados de estos análisis figuran en la Tabla 1.

El contenido de aminoácidos esenciales de los tres alimentos se determinó por métodos microbiológicos; se usaron medios Difco* y *Leuconostoc mesenteroides* P-60 en las determi-

* *Difco Laboratories, Detroit 1, Michigan, E. U. A.*



Figura 1.

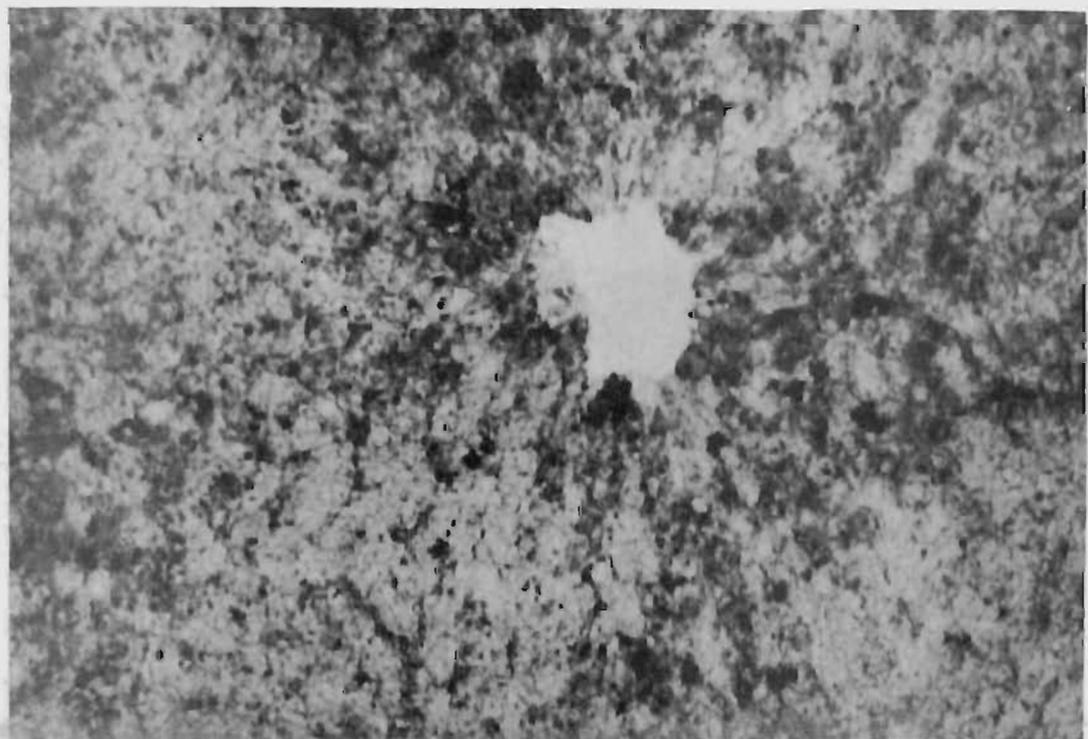


Figura 2.

TABLA 2

Composición de dietas elaboradas a base de masa y de frijol cocido 1,2

Dieta Nº	Tortilla %	Masa g. N.	Frijol Cocido %	Frijol Cocido g. N.	Masa %	Frijol cocido Nitrógeno	N. Total g. %
1	87.00	1.150	—	—	100	0	1.15
2	69.59	0.920	7.33	0.230	80	20	1.15
3	60.89	0.805	11.00	0.345	70	30	1.15
4	52.19	0.690	14.67	0.460	60	40	1.15
5	43.50	0.575	18.34	0.575	50	50	1.15
6	34.79	0.460	22.00	0.690	40	60	1.15
7	17.40	0.230	29.34	0.920	20	80	1.15
8	—	—	36.67	1.150	0	100	1.15

1. Contenido de nitrógeno de la masa, 1.322%; contenido de nitrógeno del frijol cocido, 3.136%.
2. Las mezclas de masa y de frijol cocido fueron suplementadas con 4% de minerales; 2% de celulosa; 2% de aceite de hígado de bacalao; 5% de aceite de algodón; almidón en cantidades suficientes para 100 g. y vitaminas (38) (5 ml. de solución/100 g. de dieta).

INCAP, y para los estudios realizados con arroz y frijol cocido, ratas importadas del tipo Charles River, debido a que la producción de la colonia del Instituto no era suficiente para suministrar el número total de animales requeridos para estas investigaciones.

En los estudios con arroz y frijol, al igual que en los realizados con masa y frijol, se prepararon 8 dietas según se describen en la Tabla 3, las que se suplementaron con 2% de aceite de hígado de bacalao, 5% de aceite de algodón, 5% de sales minerales, y almidón en cantidades suficientes para completar 100 gramos de dieta. Las vitaminas se agregaron en la forma ya descrita. Los animales se alojaron en jaulas individuales de alambre con fondos elevados de tela metálica, registrándose las cifras de aumento de peso y de alimento consumido, cada 7 días. Las ratas tuvieron agua disponible durante todo el tiempo que duró el experimento.

La duración de los ensayos hechos con ratas jóvenes en el proceso de crecimiento fue de 4 semanas, al cabo de las cuales los animales fueron sacrificados y el hígado disectado y analizado para determinar su contenido de humedad, nitrógeno y extracto etéreo (grasa). Un pequeño fragmento de hígado fue fijado en solución neutra de formol al 10% para ser estudiado histopatológicamente. Se emplearon las coloraciones Sudán IV, hematoxilina-eosina, y coloración de Gomori para las fibras de reticulina. Los depósitos de grasa que fueron observados histopatológicamente en el hígado fueron después clasificados arbitrariamente en 4 grados:

Grado 0: Cuando no existía ningún material Sudanofílico (Figura 1).

Grado I: Cuando se observaban algunas células hepáticas conteniendo depósitos de grasa, en su mayor parte de distribución periportal (Figura 2).

Grado II: Cuando el depósito de grasa era mayor pero siempre de distribución periportal (Figura 3).

Grado III: Cuando el cambio grasiento era más severo y difuso; aunque difuso, todavía más severo en la región periportal del lobulillo (Figura 4).

IV. RESULTADOS

A. COMPOSICION QUIMICA

En la Tabla 1 figuran los resultados de la composición química de los materiales usados en los estudios biológicos. En lo que a proteína se refiere, se puede notar que el contenido proteico del frijol es el doble que el del maíz o el de la masa de maíz, y alrededor de tres veces mayor que el del arroz. El maíz crudo y la masa contienen mayores cantidades de extracto etéreo que el frijol crudo o cocido y que el arroz; en cambio, en cuanto a fibra cruda, el frijol crudo o cocido contiene mayores cantidades que los otros dos alimentos.

B. CONTENIDO DE AMINOACIDOS

El contenido de aminoácidos esenciales de los materiales, tanto crudos como cocidos, se presenta en las Tablas 4 y 5. Los aminoácidos aparecen expresados en gramos de aminoácido por 100 gramos de alimento y en gramos de aminoácido por gramo de nitrógeno. Al comparar el contenido de aminoácidos del maíz crudo con el de la masa, expresado en gramos de aminoácido por gramo de nitrógeno, se observan pequeños cambios que posiblemente no sean significativos. En el maíz crudo se encontró 0.262 gramos de arginina por gramo de nitrógeno, mientras que en la masa la cifra fue de 0.242 gramos del mismo aminoácido por gramo de nitrógeno. En el caso del triptofano, se encontró 0.032 y 0.028 gramos por gramo de nitrógeno en el maíz crudo y en la masa, respectivamente. No se observaron otros cambios que merezcan mencionarse, en el contenido de aminoácidos del material; en realidad, los resultados fueron similares a los reportados por Bressani y Scrimshaw (8).

En el caso del contenido de aminoácidos del frijol crudo y del cocido, en base de gramo de aminoácido por gramo de nitrógeno, los cambios fueron de mayor magnitud. En general,

TABLA 4

Composición de aminoácidos esenciales de materiales usados en ensayos biológicos.

Aminoácidos	Maíz		Tortilla		Arroz		FAO*	Puntaje	
	g. %	g./g.N	g. %	g./g.N	g. %	g./g.N		g./g.N	Tortilla
Arginina ..	0.384	0.262	0.318	0.242	0.580	0.530	—		
Histidina ..	0.339	0.231	0.330	0.249	0.224	0.204	—		
Isoleucina .	0.312	0.213	0.300	0.227	0.370	0.336	0.270	84	
Leucina	0.840	0.572	0.762	0.575	0.542	0.493	0.306		
Lisina	0.185	0.126	0.182	0.138	0.289	0.263	0.270	51	97
Metionina ..	0.168	0.114	0.158	0.119	0.235	0.214	0.270	72	
Cistina	0.110	0.075	0.100	0.076	0.087	0.079			
Fenilalanina	0.405	0.276	0.358	0.271	0.370	0.336	0.180		
Tirosina ...	0.292	0.199	0.257	0.195	0.536	0.487	0.180		
Treonina ..	0.314	0.214	0.302	0.228	0.252	0.229	0.180		
Triptofano .	0.047	0.032	0.037	0.028	0.086	0.078	0.090	31	87
Valina	0.412	0.281	0.392	0.297	0.424	0.386	0.270		

* Valores de aminoácidos que contiene la Proteína de Referencia de la FAO. (41)

y para la lisina, respectivamente. En cuanto al frijol, la comparación indica que este alimento, en su forma cocida, contiene el 47% de metionina, el 84% de triptofano, y el 90% de leucina de los niveles recomendados por la FAO en su Proteína de Referencia.

C. COMBINACIONES DE MASA Y DE FRIJOL COCIDO

1. *Estudios biológicos con ratas jóvenes.* Se realizaron dos ensayos, los resultados del primero de los cuales se presentan en la Tabla 6. Se puede observar que la dieta a base de masa produjo un aumento de peso de 17 gramos en 28 días. Al agregar 7.33% de frijol cocido a la dieta, lo que equivale a 20% del nitrógeno total de la misma (1.15 g. %), se obtuvo un aumento de peso de 33 gramos en 28 días, es decir el doble del aumento observado al administrar solamente masa. Las ratas aumentaron 40 gramos de peso en 28 días al administrárseles la dieta de frijol (dieta 4) de la cual provenía 40% del nitrógeno, es decir que se observó una diferencia de 7 gramos más que en el caso de la dieta de frijol que aportaba 20% del nitrógeno. En los casos en que el 60, el 80 y el 100% del nitrógeno de la dieta provenía del frijol, los animales tuvieron un aumento de peso de 35, 22 y 2 gramos, respectivamente, en el mismo período de 28 días. Las tasas de eficiencia proteica calculadas del peso aumentado y la cantidad de proteína ingerida fueron paralelas al crecimiento observado, de tal manera que el mejor índice de eficiencia proteica (1.81) corresponde a la dieta 4, con la que se obtuvo un crecimiento de 40 gramos. En el caso de la dieta 4 el 60% del nitrógeno provenía del maíz y el 40%, del frijol cocido.

Los resultados del experimento 2 se presentan en la Tabla 6, siendo en general similares a los del primer ensayo. La adición de 20% del nitrógeno de la dieta en la forma de frijol cocido produjo casi el doble de aumento de peso en comparación con los experimentos en los que todo el nitrógeno provenía de la masa (Dietas 1 y 2). Al aportar el frijol cocido entre 30 y 40% del nitrógeno de la dieta, se observó un aumento de peso de 25 y 28 gramos, respectivamente; el 50 y 60% del nitrógeno de la dieta provenientes del frijol produjeron au-

TABLA 6

Crecimiento de ratas, índice de eficiencia proteica y eficiencia del alimento de mezclas de masa de maíz y de frijol cocido¹.

Dieta Nº	Peso Promedio			Alimento consumido	Proteína		Índice de Eficiencia	
	inicial	final	aumento ²		en la dieta	consumida	del alimento ³	proteica ⁴
g.	g.	g.	g.	g.	g. %	g.		
Experimento Nº 1								
1	60	77	17	234	7.31	17.10	13.76	0.994
2	60	93	33	278	7.37	20.49	8.42	1.610
4	60	100	40	292	7.56	22.08	7.30	1.812
6	60	95	35	309	7.87	24.32	8.83	1.439
7	60	82	22	272	7.87	21.41	12.36	1.028
8	60	62	2	237	7.87	18.65	118.50	0.107

TABLA 7

Repleción de ratas adultas depauperadas de proteínas con mezclas de masa de maíz y de frijol cocido¹.

Dieta Nº	inicial g.	Peso Promedio				Consumo de alimento promedio 21 días g.
		final		aumento		
		14 días g.	21 días g.	14 días g.	21 días g.	
Experimento Nº 1						
1	133	166	173	33	40	—
2	132	170	181	38	49	—
3	132	172	178	40	46	—
4	132	175	179	43	47	—
5	132	176	183	44	51	—
6	133	177	188	44	55	—
7	134	170	178	36	44	—
8	132	149	153	17	21	—
Experimento Nº 2						
1	156	194	206	38	50	338
2	157	204	216	47	58	355
3	158	205	215	48	57	357
4	156	204	216	48	60	356
5	157	204	217	47	60	356
6	158	204	218	46	60	349
7	156	185	195	29	39	344
8	158	168	172	10	14	252

1. El experimento tuvo una duración de 21 días.

del primer experimento de crecimiento, se presenta en la Tabla 8. Puede notarse que hubo una pequeña acumulación de grasa en los hígados de las ratas alimentadas con 100% de las proteínas contribuidas por la masa, cifras que fueron de 12.7 y 14.2% para los machos y para las hembras, respectivamente. Conforme la contribución proteica del frijol cocido aumentaba en la dieta, se encontró que también la grasa hepática aumentaba, alcanzando un valor máximo de 25.9 y 19.7% en los machos y las hembras, respectivamente, cuando el frijol aportaba el 60% de las proteínas de la dieta. Sin embargo, cuando la contribución proteica del frijol cocido de la dieta fue de 80 y de 100%, se notó que la deposición de grasa disminuyó tanto en las hembras como en los machos a 15.2 y 20.0% con la dieta 7 y a 12.2 y 17.6% con la dieta 8, o sea la dieta cuyo contenido total de proteína provenía del frijol cocido. El peso de los hígados de las ratas de ambos sexos siguió de cerca el peso corporal de los animales y no se encontró ninguna tendencia significativa en este sentido.

Los resultados del segundo experimento se presentan en la Tabla 9. En este ensayo, los niveles de grasa no fueron tan elevados como en el primero (Tabla 8); sin embargo, la grasa estuvo ligeramente elevada y siguió la tendencia ya descrita.

TABLA 8

Peso, contenido de agua y de grasa de hígados de ratas alimentadas con mezclas de masa y de frijol cocido.

Proteína proveniente de la masa y del frijol	Peso promedio				Humedad		Contenido de grasa en el hígado				Peso del hígado/peso de rata x 100		
	ratas		hígado		en el hígado		g./100		g.1 g./100 g.2				
	g.	g.	g.	g.	g. %	g. %	g. %	g. %	g. %	g. %	g. %	g. %	
%	%	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
100	0	78	77	3.6	4.1	68.6	68.3	4.0	4.5	12.7	14.2	4.6	5.3
80	20	88	97	4.0	4.6	67.4	65.4	5.8	4.9	17.8	14.2	4.6	4.7
60	40	106	94	5.7	4.3	66.1	68.1	8.3	5.0	24.5	15.7	5.4	4.6
40	60	105	85	4.8	4.1	66.8	68.5	8.6	6.2	25.9	19.7	4.6	4.8
20	80	85	79	4.7	3.9	69.5	67.2	6.1	5.0	20.0	15.2	5.5	4.9
0	100	63	62	3.3	2.9	70.5	69.7	5.2	3.7	17.6	12.2	5.2	4.7

estado húmedo.
estado seco.

TABLA 9

Contenido de agua, grasa y proteína de los hígados de ratas alimentadas con mezclas de masa y de frijol cocido.

Proteína proveniente de la masa y del frijol	Peso promedio				Humedad		Contenido de grasa en el hígado				Contenido de nitró- geno*		Peso del hígado/peso de rata x 100		
	ratas		hígado		en el hígado		g./100		g.1 g./100 g.2		g./100 g.				
	g.	g.	g.	g.	g. %	g. %	g. %	g. %	g. %	g. %	g. %	g. %	g. %	g. %	
%	%	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
0	88	70	3.9	3.4	68.0	68.3	4.4	3.9	13.63	12.22	7.74	7.31	4.4	4.9	
20	94	95	4.3	5.1	67.7	67.4	5.4	4.7	16.90	14.50	7.29	6.77	4.6	5.4	
30	103	81	5.0	4.2	68.5	68.9	4.6	4.4	14.00	14.00	7.28	8.44	4.9	5.2	
40	73	84	5.0	4.4	70.6	69.3	4.2	4.2	14.33	13.82	8.78	8.86	6.8	5.2	
50	108	95	4.8	3.8	68.9	69.1	4.2	4.5	13.68	14.44	8.54	9.08	4.4	4.0	
60	115	87	4.5	4.2	68.4	69.8	4.7	5.0	14.98	16.47	8.00	9.11	3.9	4.8	
80	95	84	4.2	4.0	69.9	70.5	4.5	5.0	15.08	17.11	8.48	8.20	4.4	4.8	
100	74	63	3.8	3.1	72.1	72.0	4.4	4.0	15.87	14.47	9.36	9.00	5.1	4.9	
—	155	168	8.0	8.5	68.6	68.4	3.6	3.4	11.50	10.80	10.50	9.65	5.6	6.0	

estado húmedo.
estado seco.
i.

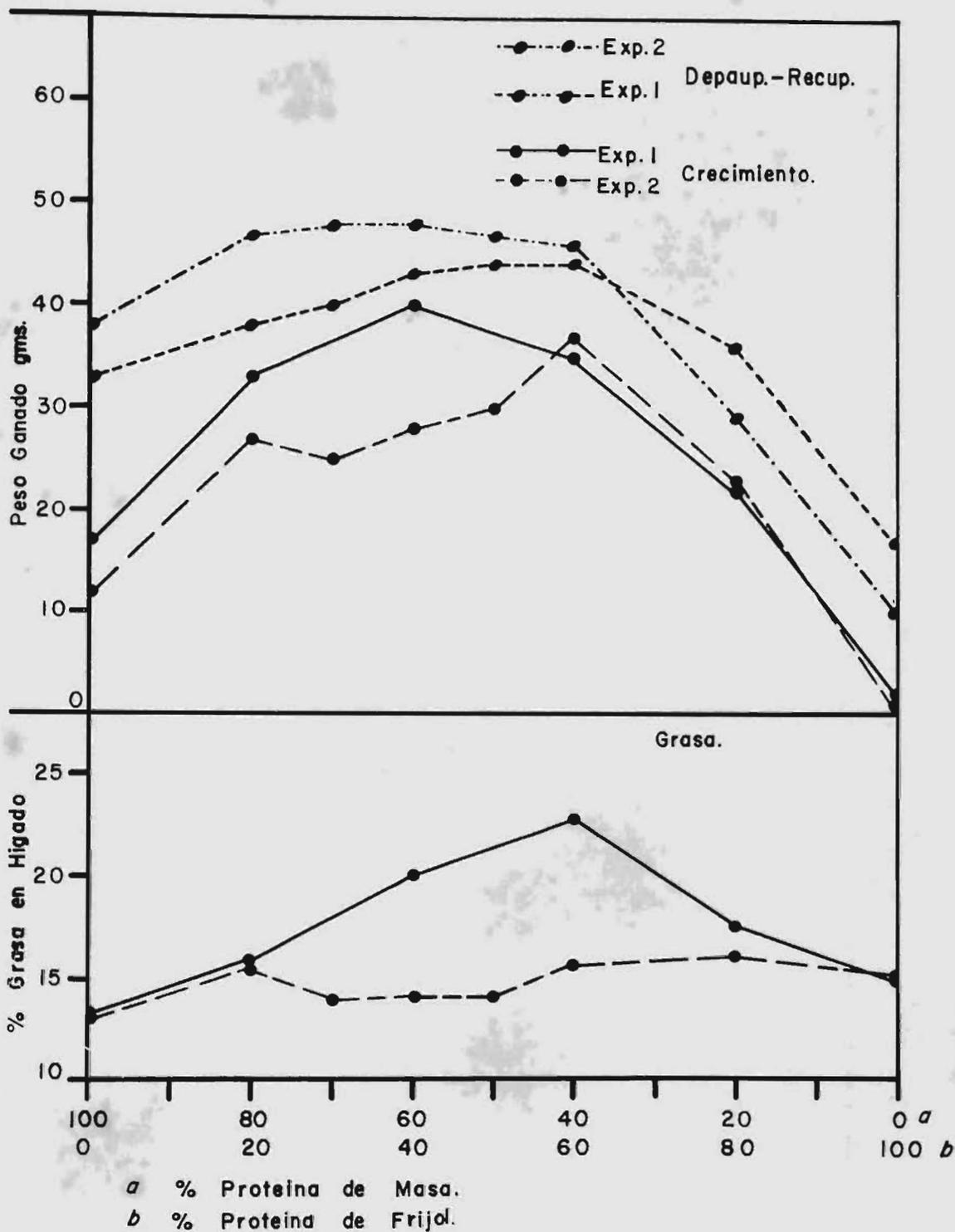


Figura 5. Resumen gráfico de los estudios hechos con masa de maíz y frijol cocido.

ron un aumento de peso casi igual entre sí: 51, 52, 53 y 51 gramos, respectivamente. La tasa de eficiencia proteica en estos cuatro grupos fue de 2.7, 2.7, 2.6 y 2.6. Al aumentar la contribución proteica del frijol hasta el 60% del nitrógeno de la dieta (ración 6-A), el crecimiento observado fue de 38 gramos, con un índice de utilización proteica de 2.3. La inclusión de mayores cantidades de frijol en la dieta, que aportaban el 80 y 100% del nitrógeno de la ración, produjeron un crecimiento de 18 y 4 gramos en 28 días. Un grupo testigo que recibió una dieta en la cual toda la proteína provenía de 9% de caseína*, alcanzó 79 gramos de crecimiento en 28 días, con un índice de eficiencia proteica de 3.4.

2. *Estudios de depauperación y repleción proteica en ratas adultas alimentadas con dietas de frijol y arroz.* Los resultados de este experimento aparecen en la Tabla 11. La dieta cuyo contenido total de nitrógeno provenía del arroz (dieta 1-A), produjo una recuperación proteica de 53 gramos de peso en 14 días. El aumento de peso en el caso de la dieta en la que el 80% del nitrógeno provenía del arroz y el 20% del frijol, fue de 62 gramos. Las dietas 3-A, 4-A y 5-A, en las que el arroz proporcionaba 70, 60 y 50% del nitrógeno de la ración, produjeron un aumento de peso similar entre sí, siendo éste de 66, 68 y 67 gramos, respectivamente. Al aumentar a 60, 80 y 100% del nitrógeno total la contribución proteica del frijol a la dieta, se pudo observar que las recuperaciones de peso en el término de 14 días sufrieron una disminución, teniendo como resultado aumentos de peso de 57, 41 y 23 gramos, respectivamente.

3. *Análisis químico del hígado de ratas jóvenes usadas en el experimento de crecimiento.* El contenido de humedad, de nitrógeno y de grasa de los hígados de las ratas jóvenes usadas

* *Test vitamin-free casein. Nutritional Biochemicals Corporation, Cleveland, Ohio, E.U.A.*

TABLA 11

Repleción de ratas adultas depauperadas de proteínas con mezclas de arroz y de frijol cocido¹

Dieta Nº	Peso Promedio			Consumo de alimento	
	inicial g.	final 14 días g.	aumento g.	promedio g.	Eficiencia de Alimentación ²
1 - a	170	223	53	278	5.24
2 - a	170	232	62	306	4.93
3 - a	171	237	66	300	4.54
4 - a	170	238	68	290	4.26
5 - a	171	238	67	301	4.49
6 - a	170	227	57	266	4.67
7 - a	171	212	41	251	6.12
8 - a	171	194	23	238	10.35

1. Promedio de aumento de peso de seis ratas por grupo.

2. Índice de eficiencia de alimento: alimento consumido/aumento de peso.

arroz contribuía con el 70, 60 y 50% de las proteínas, respectivamente. El estudio histopatológico concuerda, por lo tanto, con los hallazgos químicos mencionados. La grasa en los hígados más severamente afectados era de distribución difusa, aunque más notoria en la región periportal del lobulillo. El cambio grasiento era de "gota fina o gruesa".

No se observó ninguna diferencia entre los hígados de los animales sujetos a las dietas a base de arroz y frijol cocido y los de las ratas que recibieron masa y frijol cocido.

E. SUPLEMENTACION CON AMINOACIDOS

Suplementación de las dietas 4 (masa y frijol) y 4-A (arroz y frijol) con aminoácidos, administradas a ratas adultas depauperadas de proteína.

Las dietas 4 y 4-A consistentes en una combinación de masa y frijol y de arroz y frijol, respectivamente, fueron administradas durante los estudios preliminares de suplementación con aminoácidos. Se investigó, además, el efecto del agregado de metionina al frijol cocido, y los resultados obtenidos se compararon con una dieta a base de leche descremada al mismo nivel proteico y suplementada con metionina que es el aminoácido más limitante de la leche (39). Las dietas empleadas en este ensayo se detallan en la Tabla 13. Los resultados de la recuperación de peso observados en las ratas depauperadas de sus reservas proteicas se presentan en la Tabla 14.

La dieta 4, compuesta de masa y de frijol cocido, no mejoró nutricionalmente al agregársele metionina o metionina más lisina, ya que con la dieta no suplementada se obtuvo una recuperación de peso de 56 gramos, en comparación con 50 gramos obtenidos con la dieta 4 suplementada con metionina, y con 31 gramos al administrarse la dieta 4 suplementada con metionina más lisina. El efecto de las tres dietas también se aprecia al examinar los resultados de las tasas de eficiencia del alimento y de eficiencia de repleción proteica, cifras de 2.36 y 1.70 gramos de alimento y de proteína por gramo de aumento de peso con la dieta 4; de 2.42 y de 1.74 gramos con la dieta 4 más el agregado de metionina, y de 2.81 y 2.02 gramos con la dieta 4 suplementada con metionina más lisina.

La mezcla de arroz y de frijol cocido (dieta 4-A) produjo 71 gramos de aumento de peso. Al suplementar esta combinación con metionina, se obtuvo una recuperación de 79 gramos, la que no mejoró cuando la dieta fué suplementada con metionina y treonina, suplementación que produjo una recuperación de peso de 75 gramos. La adición de metionina, de treonina y de lisina a la dieta 4-A, sin embargo, tuvo como resultado una recuperación de peso de 83 gramos, cifra que es ligeramente más alta que la obtenida al agregar únicamente metionina. El efecto de la suplementación con los tres aminoácidos se puede apreciar más claramente si se estudian las tasas de eficiencia del alimento y recuperación proteica, las que no mejoraron significativamente al suplementar la dieta 4-A con metionina, lisina y treonina.

Es interesante observar que la combinación de masa más frijol cocido (dieta 4) es, en lo que a proteína se refiere, inferior a la mezcla de arroz y de frijol cocido (dieta 4-A); la primera no produjo una recuperación de peso o tasa de eficiencia de recuperación proteica tan buenas como la segunda, aunque la eficiencia de utilización del alimento fue similar en los dos casos.

De nuevo se puede observar el efecto beneficioso de la adición del cereal al frijol cocido al comparar la recuperación proteica obtenida en el caso de las ratas adultas alimentadas sólo con frijol cocido, con la que se obtuvo en el caso de los animales a los que se les administró frijol y masa o frijol con arroz. Las ratas alimentadas con frijol solamente, mostraron una recuperación de 9 gramos del peso corporal, mientras que aquellas que recibieron frijol y maíz (dieta 4) recuperaron 56 gramos de peso y las alimentadas con arroz más frijol (die-

TABLA 13

Composición de dietas usadas en estudio de depleción-repleción de dieta N^o 4 de masa-frijol y frijol-arroz suplementadas con aminoácidos.¹

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Masa	48.70	48.70	48.70	—	—	—	—	—	—	—
Frijol Cocido	13.80	13.80	13.80	11.72	11.72	11.72	11.72	28.80	28.80	—
Arroz	—	—	—	49.80	49.80	49.80	49.80	—	—	—
Leche en polvo	—	—	—	—	—	—	—	—	—	13.20
Minerales	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Aceite de Hígado de Bacalao	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Aceite de Algodón	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Celulosa	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2.00
DL-Metionina	—	0.15	0.15	—	0.15	0.15	0.15	—	0.20	0.10
DL-Treonina	—	—	—	—	—	0.10	0.10	—	—	—
L-Lisina HCL	—	—	0.10	—	—	—	0.10	—	—	—
Almidón	26.50	26.35	26.25	27.48	27.33	27.33	27.13	60.20	60.00	63.70

1. N. de la masa 1.417; N. del frijol 3.329; N. del arroz 1.184; N. de la leche 5.208.

TABLA 14

Repleción de ratas adultas depauperadas de proteínas con las dietas 4 (masa y frijol cocido), 4a (arroz y frijol cocido) y con frijol cocido suplementadas con aminoácidos

	Proteína en la dieta	Peso promedio			alimento ingerido	Indice de eficiencia del alimento ¹	repleción proteica ²
		inicial	final 14 días	aumento			
	g. %	g.	g.	g.	g.		
Masa + frijol cocido (N ^o 4)	7.20	150	206	56	1320	2.36	1.70
N ^o 4 + metionina	7.20	150	200	50	1211	2.42	1.74
N ^o 4 + metionina + lisina	7.20	150	181	31	870	2.81	2.02
Arroz + frijol cocido (N ^o 4a)	6.12	150	221	71	1650	2.32	1.42
N ^o 4a + metionina	6.12	150	229	79	1709	2.16	1.33
N ^o 4a + metionina + treonina	6.12	150	225	75	1616	2.15	1.32
N ^o 4a + metionina + treonina + lisina	6.12	150	233	83	1642	1.98	1.21
Frijol cocido	6.00	150	159	9	790	8.77	5.27
Frijol cocido + metionina	6.00	150	194	44	1159	2.63	1.58
Leche descremada + metionina	6.00	150	216	66	1207	1.83	1.10

1. Alimento ingerido/aumento de peso.

TABLA 15

Contenido de Aminoácidos esenciales de las diferentes dietas elaboradas a base de tortilla y de frijol cocido. (1)

(Aminoácidos totales en mg.)

Dieta Nº	1	2	3	4	5	6	7	8	Proteína de Referencia FAO
Porcentaje de proteína contribuida por tortilla y frijol	100-0	80-20	70-30	60-40	50-50	40-60	20-80	0-100	
Arginina	278	312	329	345	362	378	412	445	—
Histidina	286	285	283	283	282	281	280	278	—
Isoleucina	261	290	304	318	331	346	374	402	310
Leucina	661	592	558	523	489	453	384	313	352
Lisina	159	257	307	356	405	454	554	652	310
Metionina	137	128	125	120	116	112	103	95	
	(224)	(208)	(201)	(192)	(185)	(177)	(160)	(144)	310
Cistina	87	80	76	72	69	65	57	49	
Fenilalanina . . .	312	327	335	343	350	358	373	389	
	(536)	(545)	(551)	(556)	(560)	(566)	(576)	(586)	207
Tirosina	224	218	216	213	210	208	203	197	
Treonina	262	286	298	303	321	333	356	381	207
Triptofano	32	43	49	54	60	66	76	87	104
Valina	342	392	417	442	468	493	543	593	310

(1) El contenido de nitrógeno de las dietas es 1.15 g./100 g.

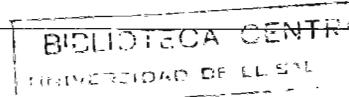
TABLA 16

Contenido de aminoácidos esenciales de las diferentes dietas elaboradas a base de arroz y de frijol cocido. (1)

(Aminoácidos totales en mg.)

Dieta Nº	1	2	3	4	5	6	7	8	Proteína de Referencia FAO
Porcentaje de proteína contribuida por arroz y frijol	100.0	80-20	70-30	60-10	50-50	40-60	20-80	0-100	
Arginina	519	492	478	464	450	436	408	379	—
Histidina	200	207	211	215	219	222	230	237	—
Isoleucina	329	332	333	335	337	338	340	343	270
Leucina	483	440	418	397	376	354	313	269	306
Lisina	258	317	347	377	407	436	495	556	270
Metionina	210	184	171	158	146	133	108	81	
	(312)	(254)	(238)	(221)	(206)	(190)	(158)	(123)	270
Cistina	132	70	67	63	60	57	50	42	
Fenilalanina . . .	329	329	329	331	331	331	331	331	
	(806)	(745)	(713)	(681)	(654)	(622)	(561)	(499)	180
Tirosina	477	416	384	353	323	291	230	168	
Treonina	221	245	254	265	274	285	301	321	180
Triptofano	76	76	76	76	75	77	75	71	90
Valina	378	403	417	429	442	454	479	506	270

(1) El Contenido de N de las dietas es 1 g./100 g.



La utilización de la proteína se puede ver afectada por el tipo de carbohidrato de la dieta (30,55). Sería de interés investigar si los carbohidratos del frijol son responsables en más alto grado que la deficiencia de metionina, del crecimiento inferior observado en los estudios que aquí se detallan. Sería interesante, asimismo, estudiar qué efecto ejerce la duración del tiempo de cocción sobre la capacidad del frijol para inducir un crecimiento igual o mejor que el obtenido con los cereales, pues en lo que a deficiencias de aminoácidos se refiere, el frijol es menos deficiente en este sentido que los cereales.

Ya que el maíz es deficiente en lisina y en triptofano, aminoácidos que el frijol contiene en cantidades adecuadas, se observaron mejoras en el crecimiento de ratas jóvenes y una mayor recuperación del peso perdido en las ratas adultas depauperadas en los casos en que parte del nitrógeno total de la dieta la aportó el frijol cocido. Sin embargo, la mejora de crecimiento y el aumento de peso corporal no fueron progresivos. Estos resultados se manifestaron cuando un 70% de las proteínas de la dieta provenían de la masa y el 30% del frijol, desapareciendo al proporcionar el frijol cocido un 60% de las proteínas y de la masa el 40%. En este grupo de dietas la adición del frijol al maíz corrigió la deficiencia de lisina que tiene el grano, existiendo, sin embargo, deficiencias de otros dos aminoácidos. La primera fue la de metionina, que se hizo más marcada conforme aumentada la cantidad de frijol de la dieta, y la segunda, la de triptofano, aminoácido que disminuye a medida que aumenta el contenido de frijol de la dieta. Aunque existan deficiencias de aminoácidos esenciales, es posible que el balance global de todos no sea tan desproporcionado, permitiendo un índice aceptable de crecimiento de los animales. Si el nivel ya marginal de uno de los dos aminoácidos deficientes disminuye, es de esperar que haya poco crecimiento, hecho que se hizo evidente en las dietas en que el 80% y el 100% del nitrógeno provenían del frijol; en el caso de estas dos últimas dietas la deficiencia de metionina fue marcada, siendo también deficientes otros aminoácidos entre los cuales cabe citar la leucina.

Los resultados de los estudios hechos con combinaciones de arroz y de frijol cocido fueron, en general, parecidos a los que se obtuvieron usando masa y frijol, pudiendo argüirse las mismas razones para explicar los efectos observados. Por la composición de aminoácidos del arroz se nota que su deficiencia mayor es la de lisina; se observa también que este cereal contiene cantidades adecuadas de metionina, el aminoácido en el cual es deficiente el frijol. Por consiguiente, la complementación se debe efectuar hasta el momento en que el balance global de aminoácidos sea desproporcionado, para mantener así un buen crecimiento o una recuperación de peso adecuada. El balance global inadecuado ocurre cuando el frijol de la dieta contribuye con el 50% de las proteínas. La leucina tiende a ser limitante conforme el contenido de frijol de la dieta aumenta, y la deficiencia de triptofano disminuye a medida que se agregan mayores cantidades de frijol a las dietas de experimentación. De Castro y Pecknic (13) dieron cuenta de efectos similares de crecimiento observados en animales a través de estudios parecidos, hechos con maíz y leche, habiendo observado que la combinación de estos dos alimentos tenía un valor proteico mejor que cualquiera de los dos ingredientes por sí solos. Fekete y Korpaczy (18) también notificaron efectos similares en sus estudios de combinaciones de harina de trigo, maíz, proteína de huevo y harina de torta de semilla de girasol, observando que las combinaciones demostraban ser mejores que los ingredientes administrados por sí solos.

Los datos obtenidos sobre el contenido de grasa del hígado son indicativos del balance de aminoácidos de la dieta (16,17,28,29,31), ya que se ha demostrado que las proporciones relativas así como las cantidades de aminoácidos empleadas en la dieta, son factores importantes que afectan la deposición de grasa en el hígado de ratas alimentadas con dietas de bajo contenido proteico y que contienen cantidades adecuadas de otros factores lipotrópicos tales como la colina (28). En los experimentos hechos con masa y con frijol cocido, la acumula-

Los resultados son de mucho interés práctico ya que conociendo las proporciones óptimas entre los alimentos estudiados y sus deficiencias de aminoácidos, se pueden hacer recomendaciones en lo que respecta a otros alimentos que puedan suplir la deficiencia (s) de las mezclas de masa y frijol y de arroz y frijol. Una vez conocidos estos factores, tales combinaciones se podrían usar para la alimentación suplementaria de niños recién destetados o imposibilitados de recibir dietas más variadas en su alimentación diaria.

VI. RESUMEN

Se hizo una evaluación de la calidad proteica de mezclas de masa de maíz y frijol cocido y de arroz y frijol cocido por medio del análisis de los aminoácidos esenciales de los tres alimentos, así como por estudios biológicos con ratas alimentadas con los ingredientes por sí solos o combinados. Para el efecto se llevaron a cabo dos tipos de ensayos biológicos midiendo el valor proteico de las mezclas alimenticias en ratas jóvenes en el proceso de crecimiento y en ratas adultas depauperadas de proteína.

Se comparó el contenido de aminoácidos esenciales de los ingredientes en estado crudo y cocido, encontrándose que existían pequeñas diferencias en el mismo alimento en uno y otro estado. Al comparar el contenido de aminoácidos esenciales del material cocido con los niveles de aminoácidos de la Proteína de Referencia de la FAO, se encontró que la masa de maíz es deficiente en triptofano, lisina e isoleucina; el frijol cocido es deficiente en metionina y triptofano, y el arroz, en lisina, siendo el grado de deficiencia más marcado en la masa que en el frijol o en el arroz. Según el contenido de aminoácidos de los alimentos, el frijol constituye una fuente buena de lisina.

Los estudios biológicos se llevaron a cabo usando dietas isoproteicas e isocalóricas y con un contenido de fibra cruda igual en todas las raciones. La proteína total de la dieta provenía de los ingredientes individuales o de las combinaciones del cereal y de la leguminosa. En todos los experimentos realizados, la masa sola y el arroz solo produjeron mejor crecimiento que el frijol cocido, resultados que no se pueden explicar únicamente con base en el contenido de aminoácidos esenciales de los ingredientes.

En todos los estudios efectuados, incluyendo tanto los de crecimiento como los de depauperación y repleción, en los que se administraron mezclas de masa y frijol cocido, así como arroz y frijol cocido, la sustitución de parte de la proteína del cereal por proteína del frijol mejoró el crecimiento y la recuperación de peso de los animales incluidos en el experimento. En los estudios llevados a cabo con masa y con frijol, este efecto se manifestó al administrar la dieta en la que el frijol aportaba 20% de la proteína total y dejó de observarse al alimentar a los animales con la ración en la que este ingrediente, o sea el frijol, proveía el 60% de la proteína. En los experimentos hechos con combinaciones de arroz y de frijol, la mejora de crecimiento de las ratas jóvenes y de la recuperación de peso de los animales depauperados principió cuando el frijol aportaba el 20% de la proteína total de la dieta y se dejó de observar al proporcionar este ingrediente el 50% del nitrógeno total de la ración. La inclusión de mayores cantidades de proteína del frijol tuvo como resultado un menor crecimiento en las ratas jóvenes y un descenso en la recuperación del peso de los animales depauperados de sus reservas de proteína. Los efectos a que nos hemos referido se trataron de explicar usando para tal fin las cantidades de los aminoácidos esenciales de cada dieta experimental. En general, las deficiencias de lisina de los dos cereales se corrigen conforme la cantidad de proteína del frijol aumenta en la ración y al mismo tiempo la cantidad de metionina disminuye; otros aminoácidos esenciales también se vuelven limitantes conforme la cantidad de frijol aumenta en la dieta.

VII. RECONOCIMIENTOS

Deseo dejar constancia de mi agradecimiento al personal del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP) y, en especial, a su Director Dr. Nevin S. Scrimshaw, quien me proporcionó la oportunidad de llevar a cabo este Trabajo de Tesis como becaria de la Institución.

Asimismo patentizo mi reconocimiento a la Dirección General de Sanidad de El Salvador a través de la cual fué girada dicha beca, como a las demás personas que en una u otra forma se interesaron por hacerla efectiva.

Al Dr. Carlos Tejada Valenzuela, Jefe de la División de Patología Clínica del INCAP, agradezco su entusiasta colaboración.

Finalmente, y en una forma muy especial, hago público mi sincero agradecimiento al Dr. Ricardo Bressani, Jefe de la División de Química Agrícola y de Alimentos del INCAP, por la constante ayuda, dirección y buena voluntad que en todo momento tuvo a bien prestarme y bajo cuya firme guía pude llevar a cabo estas investigaciones.

19. Flores, M., y E. Reh: Estudios de Hábitos Dietéticos en Poblaciones de Guatemala. I. Magdalena Milpas Altas. *Suplemento N° 2 del Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, "Publicaciones Científicas del INCAP", p. 90-128, 1955.
20. Flores, M., y E. Reh: Estudios de Hábitos Dietéticos en Poblaciones de Guatemala. II. Santo Domingo Xenacoj. *Suplemento N° 2 del Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, "Publicaciones Científicas del INCAP", p. 129-148, 1955.
21. Flores, M., y E. Reh: Estudios de Hábitos Dietéticos en Poblaciones de Guatemala. III. San Antonio Aguas Calientes y su Aldea, San Andrés Ceballos. *Suplemento N° 2 del Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, "Publicaciones Científicas del INCAP", p. 149-162, 1955.
22. Flores, M., y E. Reh: Estudios de Hábitos Dietéticos en Poblaciones de Guatemala. IV. Santa María Cauqué. *Suplemento N° 2 del Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, "Publicaciones Científicas del INCAP", p. 163-173, 1955.
23. Frey, K. J.: The Inheritance of Protein and Certain of Its Components in Maize. *Agron. J.* 41: 113-117, 1949.
24. Frey, K. J., B. Brimhall, y G. F. Sprague: The Effects of Selection Upon Protein Quality in the Corn Kernel. *Agron. J.* 41: 399-403, 1949.
25. Geiger, E.: Experiments with Delayed Supplementation of Incomplete Amino Acid Mixtures. *J. Nutrition* 34: 97-111, 1947.
26. Hamilton, T. S., B. C. Hamilton, B. C. Johnson, y H. H. Mitchell: The Dependence of the Physical and Chemical Composition of the Corn Kernel on Soil Fertility and Cropping System. *Cereal Chem.* 28: 163-176, 1951.
27. Hansen, D. W., B. Brimhall, G. F. Sprague: Relationship of Zein to the Total Protein in Corn. *Cereal Chem.* 23: 329-335, 1946.
28. Harper, A. E., J. Monson, D. A. Benton, M. E. Winje, y C. A. Elvehjem: Factors Other Than Choline which Affect the Deposition of Liver Fat. *J. Biol. Chem.* 206: 151-158, 1954.
29. Harper, A. E., M. E. Winje, D. A. Benton, y C. A. Elvehjem: Effect of Amino Acid Supplements on Growth and Fat Deposition in the Livers of Rats fed Polished Rice. *J. Nutrition.* 56: 187-196, 1955.
30. Harper, A. E., y C. A. Elvehjem: Dietary Carbohydrates. A Review of the Effects of Different Carbohydrates on Vitamin and Amino Acid Requirements. *J. Agric. & Food Chem.* 5: 754-758, 1957.
31. Harper, A. E.: Balance and Imbalance of Amino Acids. *Ann. New York Acad. of Sciences.* 69: 1025-1041, 1958.
32. Hundley, J. M., H. R. Sandstead, G. Sampson, y D. Whedon: Lysine, Threonine and Other Amino Acids as Supplements to Rice Diets in Man: Amino Acid Imbalance. *Amer. J. Clin. Nutrition.* 5: 316-326, 1957.
33. Jaffé, W. G.: El Valor Biológico Comparativo de Algunas Leguminosas de Importancia en la Alimentación Venezolana. *Arch. Venezolanas de Nutrición.* 1: 107-126, 1950.
34. Kik, M. C.; Nutrients in Rice Bran and Rice Polish and Improvement of Protein Quality with Amino Acids. *J. Amer. Diet. Assoc.* 32: 647-650, 1956.
35. Kik, M. C.: Nutritional Improvement of Rice. *J. Amer. Diet. Assoc.* 32: 647-650, 1956.
36. Laguna, J., y K. J. Carpenter: Raw vs. Processed Corn in Niacin-Deficient Diets. *J. Nutrition.* 45: 21-28, 1951.
37. Massieu, H. G., O. Y. Cravioto, R. O. Cravioto, G. J. Guzmán, y M. de L. Suárez Soto: Nuevos Datos acerca del Efecto del Maíz y la Tortilla sobre el Crecimiento de Ratas Alimentadas con Dietas Bajas en Triptofano y Niacina. *Ciencia.* 16: 24-30, 1956.

57. Steele, B. F., H. E. Sauberlich, M. S. Reynolds, y C. Baumann: Media for *Leuconostoc mesenteroides* P60 and *Leuconostoc citrovorum* 8081. *J. Biol. Chem.* 177: 533-544, 1949
58. Sure, B., L. Easterling, J. Dowell, y M. Crudup: Improvement in Whole Yellow Corn with Lysine, Tryptophan and Threonine. *J. Agric. & Food Chem.* 1: 626-629, 1953.
59. Sure, B.: Protein Supplementation, Influence of Addition of Certain Amino Acids and Vitamin B12 to Proteins in Enriched Milled Wheat Flour on Growth, Protein Efficiency and Liver Fat Deposition. *J. Agric. & Food Chem.* 5: 373-375, 1957.
60. Tandon, O. B., R. Bressani, N. S. Scrimshaw, y F. Le Beau: Nutritive Value of Beans. Nutrients in Central American Beans. *J. Agric. & Food Chem.* 5: 137-142, 1957.
61. Tongur, V. S., y L. V. Orlova: Grain Mixtures with Increased Nutritive Value. *Vop. Pitani.* 15: 25-30, 1956.

PROPOSICIONES:

Química Biológica	Proteínas
Terapéutica	Vitaminas
Análisis de Alimentos	Harinas