Suplementación, con aminoácidos, del maíz y de la tortilla¹

RICARDO BRESSANI², LUIZ G. ELÍAS³ Y J. EDGAR BRAHAM²
Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP),
Guatemala, C. A.

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como propósito primordial determinar la secuencia de los aminoácidos en los que es deficiente el maíz cocido con hidróxido de calcio $\text{Ca}(\text{OH})_2$, así como comparar su valor proteico con el del grano crudo, suplementados ambos con lisina y triptofano. Los resultados señalaron que la lisina es el primer aminoácido limitante en la proteína del maíz cocido con cal, siguiéndole, en orden de importancia, el triptofano. La mejor combinación entre estos dos aminoácidos se obtuvo al utilizar como suplemento de 0.30 a 0.41% de L-lisina HCl, y de 0.05 a 0.10% de DL-triptofano. Estas combinaciones produjeron los mayores aumentos de peso, así como los mejores índices de eficiencia proteica.

En cambio, el maíz crudo enriquecido con estas mismas cantidades de los dos aminoácidos indujo mejoras en la calidad de la proteína, pero éstas no alcanzaron los valores obtenidos con el maíz cocido con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y suplementado con lisina y triptofano. Los resultados también indican que la disponibilidad del triptofano en el maíz crudo se encuentra reducida, ya que el uso de niveles de triptofano de más del 0.10% causaron incrementos en los parámetros estudiados.

Por último se comenta el significado de estos resultados en relación con la disponibilidad de la niacina y el mejoramiento de alimentos básicos, como el maíz, a través de la suplementación con aminoácidos o con concentrados proteicos.

¹ Esta investigación se llevó a cabo con ayuda financiera de los Institutos Nacionales de Salud (NIH) de los Estados Unidos de América (Subvención No. AM-03811-07 NTN).

² Jefe y Jefe Asistente de la División de Ciencias Agrícolas y de Alimentos del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá, respectivamente.

³ Científico de la misma División.

Publicación INCAP E-371.

Recibido: 7-12-1966

INTRODUCCION

En varios países de Centro América, así como en México, el maíz se consume en gran medida en forma de tortilla, y representa la fuente principal de proteínas y calorías de la dieta de consumo habitual de sus habitantes. En algunas familias del medio rural de Guatemala, por ejemplo, este cereal aporta el 75% de las calorías y el 64% de las proteínas diarias, *per capita* (1).

Hasta la fecha se han realizado diversos estudios con el propósito de establecer qué cambios ocurren en el maíz durante el proceso de elaboración de la tortilla (2,3). A pesar de que, según se ha podido determinar, este procedimiento no altera los componentes químicos principales, el contenido de calcio del grano sí aumenta significativamente, mientras que la tiamina, la riboflavina y la niacina disminuyen. Algunos autores opinan que los cambios en el contenido de niacina son muy importantes (4, 5), ya que consideran que en la tortilla esta vitamina se encuentra más accesible al organismo, y proponen diversas teorías sobre el significado nutricional de este hallazgo. Otros investigadores, en cambio, tratan de explicar el mejor crecimiento observado en ratas alimentadas con tortilla como el resultado de un mejor balance de los aminoácidos esenciales (6, 7) que es posible se deba en parte a una menor solubilidad de la zeína durante el procesamiento a que se somete el maíz para la obtención de la tortilla (2, 3).

Sin embargo, ajeno a la contribución de estas investigaciones, considerados desde el punto de vista nutricional, tanto el maíz como la tortilla son alimentos relativamente pobres, puesto que contienen poca proteína y ésta, a la vez, es deficiente en ciertos aminoácidos esenciales. El presente trabajo fue llevado a cabo con el propósito de determinar el orden de secuencia de los aminoácidos en que son deficientes el maíz crudo y la tortilla.

MATERIAL Y METODOS

La composición química de la dieta basal utilizada en todos los experimentos de que se da cuenta en este trabajo, expresada en términos de porcentaje, era como sigue: maíz crudo o tortilla, 89; sales minerales Hegsted (8), 4; aceite de algo-

dón, 5; aceite de hígado de bacalao, 1, y almidón de maíz, agregado en cantidades suficientes para ajustar 100. Todas las dietas fueron suplementadas con 4 ml de una solución completa de vitaminas (9) y los aminoácidos se incorporaron a las raciones experimentales a expensas del almidón de maíz. El contenido proteico de las dietas fluctuó entre 9 y 11%, de acuerdo con el diseño del experimento.

Para el desarrollo de las pruebas biológicas se usaron ratas blancas de la raza Wistar de la colonia animal del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP). Cada grupo experimental estuvo formado por 3 ratas machos y 3 hembras, siendo la duración de cada experimento de 28 días, período durante el cual se les suministró *ad libitum* tanto el alimento como el agua. Los aumentos de peso y el consumo de alimento fueron determinados semanalmente, y todas las

CUADRO Nº 1

SUPLEMENTACION DE LA MASA CON AMINOACIDOS

Aminoácidos ¹	Aumento de peso promedio ² g	P. E. R.
Maíz	26 ± 9.6	1.13 ± 0.26
Maíz + 0.16% lisina	19 ± 8.7	1.16 ± 0.42
Maíz + 0.235% lisina	23 ± 7.4	1.33 ± 0.42
Maíz + 0.310% lisina	30 ± 12.0	1.50 ± 0.37
Maíz + 0.47% lisina	21 ± 5.5	1.35 ± 0.34
Maíz + 0.025% triptofano	30 ± 8.2	1.34 ± 0.16
Maíz + 0.05% triptofano	28 ± 8.7	1.37 ± 0.25
Maíz + 0.075% triptofano	29 ± 8.5	1.29 ± 0.26
Maíz + 0.41% lisina + 0.05% triptofano	66 ± 31.6	2.25 ± 0.50
Maíz + 0.41% lisina + 0.10% triptofano	58 ± 25.1	2.58 ± 0.98
Maíz + 0.41% lisina + 0.15% triptofano	77 ± 27.5	2.60 ± 0.62

¹ L-Lisina HCl; DL-Triptofano.

² Peso inicial para todos los experimentos: 52-55 g.

dietas experimentales se sometieron a análisis para establecer su contenido de nitrógeno, usando el método de macro-Kjeldahl (10).

RESULTADOS

En el Cuadro N° 1 se presentan los resultados obtenidos al suplementar el maíz con lisina y triptofano por sí solos y en combinaciones a diferentes niveles. Según se aprecia, los datos obtenidos señalan que el agregado individual de lisina o de triptofano no se tradujo en un aumento significativo del peso de los animales. Se nota, sin embargo, que los niveles de lisina mayores de 0.235% y los menores de triptofano tienen la tendencia de aumentar el índice de eficiencia proteica, aunque no en grado estadísticamente significativo.

La adición simultánea de los aminoácidos resultó en un aumento significativo en la ganancia de peso, así como también en el índice de eficiencia proteica. Las cantidades que

CUADRO N° 2

SUPLEMENTACION DEL MAIZ CON AMINOACIDOS

Aminoácidos ¹	Aumento de peso promedio ² g	P. E. R.
Masa	32 ± 11.6	1.21 ± 0.27
Masa + 0.16% lisina	42 ± 9.4	1.80 ± 0.30
Masa + 0.31% lisina	41 ± 14.8	1.51 ± 0.34
Masa + 0.41% lisina	45 ± 9.9	1.67 ± 0.37
Masa + 0.47% lisina	21 ± 7.3	1.27 ± 0.46
Masa + 0.51% lisina	46 ± 11.6	1.54 ± 0.28
Masa + 0.62% lisina	33 ± 4.4	1.84 ± 0.26
Masa + 0.94% lisina	30 ± 5.0	1.61 ± 0.16
Masa + 0.025% triptofano	32 ± 4.2	1.27 ± 0.25
Masa + 0.050% triptofano	28 ± 10.2	1.18 ± 0.33
Masa + 0.075% triptofano	29 ± 8.7	1.32 ± 0.27
Masa + 0.10% triptofano	22 ± 3.7	1.15 ± 0.12
Masa + 0.15% triptofano	24 ± 7.7	1.26 ± 0.32

¹ L-Lisina HCl; DL-Triptofano.

² Peso promedio inicial para todos los experimentos: 48-52 g.

CUADRO N° 3

SUPLEMENTACION DE LA MASA CON AMINOACIDOS

Aminoácidos ¹	Aumento de peso promedio ² g	P. E. R.
Masa + 0.31% lisina + 0.05% triptofano	100 ± 21.1	2.66 ± 0.35
Masa + 0.41% lisina + 0.05% triptofano	79 ± 18.8	2.42 ± 0.35
Masa + 0.41% lisina + 0.10% triptofano	100 ± 22.4	2.68 ± 0.40
Masa + 0.41% lisina + 0.15% triptofano	100 ± 22.6	2.75 ± 0.37
Masa + 0.62% lisina + 0.10% triptofano	67 ± 14.0	2.39 ± 0.39
Masa + 0.16% lisina + 0.025% triptofano	54 ± 13.2	2.12 ± 0.33

¹ L-Lisina HCl; DL-Triptofano.

² Peso inicial: 48-52 g.

dieron mejores resultados son 0.41% de Lisina y de 0.10-0.15% de DL-Triptofano.

Los hallazgos relacionados con la adición individual de lisina y triptofano a la masa de maíz se resumen en el Cuadro N° 2. El agregado de lisina resultó en un aumento en peso y eficiencia proteica, aunque los datos no son consistentes, -en lo que a los niveles de lisina se refiere, puede decirse que al contrario del maíz, la adición individual de lisina tiene un efecto beneficioso en los parámetros medidos. El agregado aislado de triptofano a distintos niveles no tuvo ningún efecto en ganancia en peso o en eficiencia proteica.

Los resultados al suplementar la masa del maíz con lisina más triptofano en diferentes combinaciones se presentan en el Cuadro N° 3. Como puede apreciarse, las combinaciones que indujeron mejores crecimiento y eficiencia proteica en los animales corresponden a las dietas suplementadas con 0.31% de lisina más 0.05% de triptofano, y con 0.41% de lisina más 0.15% de triptofano. Es interesante señalar que a medida que aumenta el nivel suplementario de lisina, se necesita ma-

CUADRO N° 4

SUPLEMENTACION DE LA MASA CON AMINOACIDOS

Aminoácidos ¹	Aumento de peso promedio ² g	P. E. R.
Masa + 0.31% lisina + 0.05% triptofano + 0.10% isoleucina	97 ± 8.2	2.25 ± 0.08
Masa + 0.31% lisina + 0.05% triptofano + 0.20% isoleucina	74 ± 11.0	2.54 ± 0.38
Masa + 0.31% lisina + 0.05% triptofano + 0.25% isoleucina	110 ± 18.9	2.58 ± 0.29
Masa + 0.31% lisina + 0.05% triptofano + 0.30% isoleucina	100 ± 13.7	2.31 ± 0.12
Masa + 0.31% lisina + 0.05% triptofano + 0.05% metionina	95 ± 12.1	2.41 ± 0.15
Masa + 0.31% lisina + 0.05% triptofano + 0.10% metionina	102 ± 19.9	2.33 ± 0.27
Masa + 0.31% lisina + 0.05% triptofano + 0.15% metionina	104 ± 14.3	2.43 ± 0.28
Masa + 0.31% lisina + 0.05% triptofano + 0.10% treonina	103 ± 5.5	2.34 ± 0.05
Masa + 0.31% lisina + 0.05% triptofano + 0.20% treonina	118 ± 13.1	2.56 ± 0.20
Masa + 0.31% lisina + 0.05% triptofano + 0.30% treonina	95 ± 15.2	2.16 ± 0.30
Masa + 0.31% lisina + 0.10% triptofano + 0.10% metionina	96 ± 9.4	2.46 ± 0.80
Masa + 0.62% lisina + 0.05% triptofano + 0.10% metionina	85 ± 8.4	2.19 ± 0.14

¹ L-Lisina HCl; DL-Triptofano; DL-Isoleucina; DL-Metionina; DL-Treonina.

² Peso inicial: 47-54 g.

yor cantidad de triptofano para obtener un crecimiento similar al obtenido con las dos mejores combinaciones ya indicadas.

En el Cuadro N° 4 se detallan los resultados obtenidos al agregar niveles ascendentes de isoleucina, metionina y treonina a la dieta basal ya suplementada con 0.31% de lisina y 0.05% de triptofano. Como se puede apreciar, los niveles que indujeron mejores crecimiento y eficiencia proteica fueron los de 0.25%, 0.15% y 0.20% para isoleucina, metionina y treonina, respectivamente. Sin embargo, ninguno de los niveles individuales de estos aminoácidos resultó en ningún beneficio al comparar con la dieta basal suplementada sólo con lisina y triptofano. El agregado de 0.10% de metionina a la dieta basal suplementada con 0.31% de lisina y 0.10% de triptofano, y asimismo con 0.62% de lisina y 0.05% de triptofano, no resultó en ninguna mejoría a juzgar por los dos parámetros medidos.

Los datos obtenidos al suplementar la harina de masa con 4 ó 5 aminoácidos están indicados en el Cuadro N° 5. Los niveles de los aminoácidos agregados corresponden a aquellos que se encontraron óptimos desde el punto de vista de suplementación en los experimentos anteriores.

En todos los casos se puede apreciar que la adición de 4 ó 5 aminoácidos resultó en una ganancia en peso y una eficiencia proteica ligeramente superior, al comparar con la dieta basal suplementada sólo con lisina y triptofano. La dieta de masa suplementada con lisina y triptofano fue suplementada además con arginina, histidina, fenilalanina, valina, ácido glutámico y glicina. Estos agregados, sin embargo, no mejoraron el valor proteínico de la masa suplementada sólo con lisina y triptofano.

DISCUSION

Los hallazgos de los estudios informados en este trabajo revelan que la lisina es el aminoácido limitante que ocupa el primer lugar en la tortilla, es decir, en el maíz cocido con Ca(OH)₂, siguiéndole el triptofano en orden de importancia. El agregado de sólo triptofano no mejoró la calidad de las proteínas de la tortilla, mientras que el complemento de lisina aumentó el índice de eficiencia proteica. El agregado de

CUADRO N° 5

SUPLEMENTACION DE LA MASA CON AMINOACIDOS

Aminoácidos ¹	Aumento de peso promedio ² g	P. E. R.
Masa + 0.31% lisina + 0.05% triptofano + 0.20% isoleucina + 0.15% metionina	116 + 15.8	2.67 ± 0.11
Masa + 0.31% lisina + 0.05% triptofano + 0.20% treonina + 0.15% metionina	110 ± 20.9	2.67 + 0.15
Masa + 0.31% lisina + 0.05% triptofano + 0.20% treonina + 0.20% isoleucina + 0.15% metionina	112 ± 11.2	2.69 + 0.21

¹ L-Lisina HCl; DL-Triptofano; DL-Metionina; DL-Treonina; DL-Isoleucina.

² Peso inicial para todos los experimentos: 48-52 g.

lisina y triptofano produjo una mejora nutricional significativa, hecho que, como ya lo han demostrado otros estudios (12, 13), confirma la deficiencia de estos dos aminoácidos en la tortilla.

Las proteínas del maíz han sido objeto de extensas investigaciones y sus deficiencias en cuanto a aminoácidos han sido confirmadas por varios investigadores (14-18). Algunos autores han encontrado que la lisina es el aminoácido deficiente en primer lugar (14-20), mientras que otros señalan que es el triptofano el que ocupa el primer lugar como limitante (18, 19). Esta discrepancia ha sido explicada en función de las diferentes variedades de maíz usadas en los distintos experimentos (21), o bien a partir de la posibilidad de una de-

ficiencia de ácido nicotínico en el maíz crudo, la que respondería favorablemente a la suplementación con triptofano, debido a que este aminoácido puede ser transformado en dicha vitamina (18). Como se pudo observar en el estudio de que aquí se da cuenta, el mejoramiento obtenido al suplementar el maíz crudo con lisina y triptofano fue menor que el resultado de la administración de tortilla enriquecida con estos dos aminoácidos. Parecería, así, que en las dietas a base de maíz crudo el requerimiento de ácido nicotínico se incrementa, puesto que la adición del nivel más alto de triptofano usado produjo un mejor índice de eficiencia proteica. Sin embargo, es más probable que la disponibilidad del triptofano se encuentra reducida en el maíz, siendo por lo tanto necesario el agregado de este aminoácido en cantidades mayores. Cuando la dieta es suplementada con lisina, el nivel de triptofano requerido para obtener balance y suplir la deficiencia de este último aminoácido es mayor.

Bien puede ser que el requerimiento aumentado de ácido nicotínico en las dietas preparadas a base de maíz crudo se deba a un desequilibrio de aminoácidos (22-26) que posiblemente no acuse la tortilla en el mismo grado que éste se encuentra en el maíz crudo.

Ciertos estudios de suplementación realizados por otros investigadores usando variedades de maíz de alto y bajo contenido proteico (16-18) han hecho manifiesto que las respuestas obtenidas por ellos con el agregado de lisina, triptofano y ácido nicotínico no eran similares. Dichos autores llegaron a la conclusión de que en el maíz de alto contenido proteico había un mayor desbalance de aminoácidos y que, en comparación con el maíz de bajo contenido proteico, la adición de lisina y niacina producía una mejor respuesta. Estos hallazgos sugieren, por lo tanto, una mayor deficiencia de esta vitamina en el maíz de alto contenido proteico.

Por otro lado, es posible que la diferencia en el nivel de suplementación necesario para obtener una respuesta adecuada se deba al efecto del tratamiento alcalino y al calor que recibe el maíz crudo durante el proceso de preparación de la tortilla. En este sentido cabe señalar que dicho efecto no puede ser atribuido a una alta disponibilidad de la niacina en la tortilla, ya que en el presente estudio ambas dietas habían sido adicionadas de suficiente ácido nicotínico a modo de sa-

tisfacer los requerimientos de la rata para esta vitamina.

Por lo tanto, parece ser que las proporciones disponibles de triptofano en el maíz crudo son la causa más directa de la deficiencia de niacina de que éste adolece, en contraste con la tortilla.

Es un hecho plenamente reconocido que el maíz, ya sea sujeto a cocción con $\text{Ca}(\text{OH})_2$, como se acostumbra en ciertos países latinoamericanos, o cocido con agua solamente, constituye la fuente principal de proteína de muchas poblaciones de recursos económicos bajos. Los resultados de los estudios aquí expuestos, así como los de otros investigadores, indican, indiscutiblemente, que el valor proteico del maíz puede ser mejorado en forma significativa por medio del agregado de cantidades relativamente pequeñas de lisina y triptofano. Sin embargo, la solución de este problema presenta varias dificultades, entre las cuales cabe mencionar el costo todavía alto de los aminoácidos y el hecho de que este tipo de enriquecimiento únicamente puede llevarse a cabo con efectividad, industrializando las harinas de maíz. Debe considerarse, asimismo, que el maíz es más o menos pobre en su contenido de proteína. Otros estudios sobre el mismo tema (27) han revelado que la calidad y cantidad de la proteína del maíz puede incrementarse, aún más que con el agregado de aminoácidos, por medio de la incorporación de pequeñas cantidades de leche, harina de frijol de soya, levadura torula y otros concentrados proteicos.

Indiscutiblemente, este último sistema de enriquecimiento es superior al de la suplementación con aminoácidos, tanto desde el punto de vista económico como desde los aspectos prácticos y nutricionales. Por consiguiente, es muy recomendable que las entidades comerciales interesadas y los Ministerios de Salud Pública del área hagan todos los esfuerzos posibles para que este alimento sea enriquecido por medio de ciertos suplementos, ya sean éstos aminoácidos o, preferiblemente, concentrados proteicos de alto valor nutritivo.

SUMMARY

Aminoacid supplementation of corn and "tortilla"

The purpose of this work in rats, was to determine the effect of supplementing lime-treated corn with lysine and tryptophan, alone and com-

bled, and with other amino acids. Similarly, several experiments were carried out with whole ground corn and the results compared with those obtained with lime-treated corn.

Best growth performance, and protein efficiency ratio, were obtained when lime-treated corn was supplemented with 0.30-0.41% L-Lysine HCl and 0.05-0.10% DL-Tryptophan. The addition of isoleucine, threonine or methionine over lysine and tryptophan did not result in further improvement. Raw ground whole corn also responded to the levels of lysine and tryptophan indicated above. However, better results were obtained when 0.15% L-Tryptophan was added in the presence of 0.41% L-Lysine HCl. These results were interpreted to mean that in raw corn, tryptophan is not easily available to the organism. It is also possible that niacin availability is reduced; therefore, the need for greater amounts of tryptophan increases. This last possibility was discarded in view of the fact that all diets were supplemented with niacin to meet the requirements for this vitamin by the rat.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Flores, M. & Reh, E.—Estudios de hábitos dietéticos en poblaciones de Guatemala. II. Santo Domingo Xenacoj. *Bol. Of. San. Pan.* (Supl. N° 2), p. 129-148, 1955.
- (2) Bressani, R. & Scrimshaw, N. S.—Lime-heat effects on corn nutrients. Effect of lime-treatment on in vitro availability of essential amino acids and solubility of protein fractions in corn. *J. Agr. Food Chem.* 6: 774-778, 1958.
- (3) Bressani, R., Paz y Paz, R. & Scrimshaw, N. S.—Corn nutrient losses. Chemical changes in corn during preparation of tortillas. *J. Agr. Food Chem.* 6: 770-774, 1958.
- (4) Kodicek, E.—The availability of bound nicotinic acid to the rat. 2. The effect of treating maize and other materials with sodium hydroxide. *Brit. J. Nutrition* 14: 13-24, 1960.
- (5) Kodicek, E., Braude, R., Kon, S. K. & Mitchell, K. G.—The effect of alkaline hydrolysis of maize on the availability of its nicotinic acid to the pig. *Brit. J. Nutrition* 10: 51-67, 1956.
- (6) Pearson, W. N., Stempfel, S. J., Valenzuela, J. S., Utley, M. H. & Darby, W. J. The influence of cooked vs. raw maize on the growth of rats receiving a 9% casein ration. *J. Nutrition* 62: 445-463, 1957.
- (7) Bressani, R., Gómez-Brenes, R. & Scrimshaw, N. S.—Effect of processing on distribution and in vitro availability of niacin of corn (*Zea mays*). *Food Tech.* 15: 450-454, 1961.
- (8) Hegsted, D. M., Mills, R. C., Elvehjem, C. A. & Hart, E. B.—Choline in the nutrition of chicks. *J. Biol. Chem.* 138: 459-466, 1941.
- (9) Manna, L. & Hauge, S. M.—A possible relationship of vitamin B₁₂ to orotic acid. *J. Biol. Chem.* 202: 91-96, 1953.
- (10) Association of Official Agricultural Chemists. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists*, 7th ed. Washington, D. C., 1950.
- (11) Lowry, O. H. & Hunter, T. H.—The determination of serum protein concentration with a gradient tube. *J. Biol. Chem.* 159: 465-474, 1945.

- (12) Bressani, R., Scrimshaw, N. S., Béhar, M. & Viteri, F.—Supplementation of cereal proteins with amino acids. II. Effect of amino acid supplementation of corn-masa at intermediate levels of protein intake on the nitrogen retention of young children. *J. Nutrition* 66: 501-513, 1958.
- (13) Scrimshaw, N. S., Bressani, R., Béhar, M. & Viteri, F.—Supplementation of cereal proteins with amino acids. I. Effect of amino acid supplementation of corn-masa at high levels of protein intake on the nitrogen retention of young children. *J. Nutrition* 66: 485-499, 1958.
- (14) Sure, B.—Protein efficiency: improvement in whole yellow corn with lysine, tryptophan and threonine. *J. Agr. Food Chem.* 1: 626-629, 1953.
- (15) Mitchell, H. H. & Smuts, D. B.—The amino acid deficiencies of beef, wheat, corn, oats and soy beans for growth in the white rat. *J. Biol. Chem.* 95: 263-281, 1932.
- (16) Mitchell, H. H., Hamilton, T. S. & Beadles, J. R.—The relationship between the protein content of corn and the nutritional value of the protein. *J. Nutrition* 48: 461-476, 1952.
- (17) Sauberlich, H. E., Chang, W.-Y. & Salmon, W. D. The comparative nutritive value of corn of high and low protein content for growth in the rat and chick. *J. Nutrition* 51: 623-635, 1953.
- (18) Hogan, A. G., Gillespie, G. T., Koctürk, O., O'Dell, B. L. & Flynn, L. M.—The percentage of protein in corn and its nutritional properties. *J. Nutrition* 57: 225-239, 1955.
- (19) Koctürk, O. N., Flynn, L. M., O'Dell, B. L. & Hogan, A. C.—Nicotinic acid, lysine and tryptophan as supplements to low-protein corn. *Missouri Agr. Exper. Station Res. Bull.* 673, October, 1958.
- (20) Gillespie, G. T., Flynn, L. M., O'Dell, B. L. & Hogan, A. G.—Nicotinic acid, lysine, tryptophan and threonine as supplements to high-protein corn. *Missouri Agr. Exper. Station Res. Bull.* 679, September, 1958.
- (21) Hogan, A. G.—Corn as a source of protein and ash for growing animal. *J. Biol. Chem.* 29: 485-493, 1917.
- (22) Elvehjem, C. A. & Krehl, W. A.—Dietary interrelationships and imbalance in nutrition. *Borden's Rev. Nutrition Res.* 16: 69-84, 1955.
- (23) Koeppe, O. J. & Henderson, L. M.—Niacin-tryptophan deficiency resulting from imbalances in amino acid diets. *J. Nutrition* 55: 23-33, 1955.
- (24) Krehl, W. A., Elvehjem, C. A. & Strong, F. M.—The biological activity of a precursor of nicotinic acid in cereal products. *J. Biol. Chem.* 156: 13-19, 1944.
- (25) Krehl, W. A., Teply, L. J. & Elvehjem, C. A.—Corn as an etiological factor in the production of a nicotinic acid deficiency in the rat. *Science* 101: 283, 1945.
- (26) Krehl, W. A., Henderson, L. M., de la Huerga, J. & Elvehjem, C. A. Relation of amino acid imbalance to niacin-tryptophane deficiency in growing rats. *J. Biol. Chem.* 166: 531-540, 1946.
- (27) Bressani, R. W. Marengo, E.—Corn flour supplementation. The enrichment of lime-treated corn flour with proteins, lysine and tryptophan, and vitamins. *J. Agr. Food Chem.* 11: 517-522, 1963.