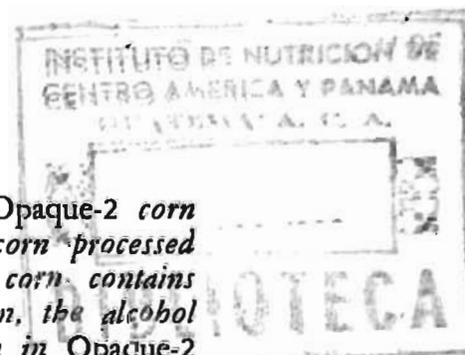


# La calidad proteica del maíz con gen Opaque-2\*1/

RICARDO BRESSANI\*\*

## ABSTRACT

*Studies were carried out to determine the nutritional value of Opaque-2 corn as compared to common corn. Likewise, the properties of Opaque-2 corn processed into "tortillas" were examined. The results indicate that common corn contains lower concentrations of lysine and tryptophan and higher levels of zein, the alcohol soluble protein of corn, than Opaque-2 corn. The lower level of zein in Opaque-2 corn explains its higher content of lysine. Opaque-2 corn can be processed into "tortillas" as efficiently as common corn. Results of biological trials in weaning white rats with Opaque-2 corn also indicate that it is nutritionally superior to common corn, and that its protein quality is equivalent to 96% that of casein. In studies with children, the biological value of Opaque-2 corn was 90% that of milk. — The author.*



## Introducción

ES un hecho de conocimiento general que el maíz, preparado en forma de tortilla, constituye el alimento básico de grandes sectores de la población de América Latina. Este asunto ha sido investigado a fondo en el Istmo Centroamericano, y los datos resultantes de diversos estudios sobre la ingesta promedio de maíz en los seis países de esta región han sido ya descritos (6, 7).

Según esos datos la cantidad de este cereal que se consume en Panamá es relativamente baja; sin embargo, en los otros cinco países (Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras y Nicaragua) el maíz aporta diariamente como valores promedio hasta el 69% de la ingesta calórica y 58% de la de proteína. En Guatemala, por ejemplo, el consumo por parte de sectores de la población de menor estado económico es aún mayor, llegando a proporcionar dicho cereal 80% de calorías y 70% de proteínas totales, diarias (6). El consumo de maíz en niños pre escolares de aldeas rurales de Guatemala, fluctúa entre 107 y 200 gramos por persona

y por día, suministrando así hasta el 72% de la ingesta diaria de proteína (7).

Es obvio por consiguiente que cualquier cambio en el valor nutritivo del maíz, ya sea éste favorable o desfavorable, puede tener efectos de gran significado en la nutrición de los pobladores del área de Centroamérica o de otros países donde el maíz es el cereal de consumo predominante.

Se ha demostrado plenamente que la proteína del maíz es de baja calidad, debido a que es deficiente en los aminoácidos esenciales lisina y triptófano (2, 8, 14), deficiencias que, a su vez, se deben a que la mayor parte de la proteína del grano de cultivo corriente está formada por la proteína zeína. Esta proteína contiene cantidades muy bajas de triptófano y carece de lisina; en contraste, el maíz con el gen *Opaque-2* contiene menos de la mitad de zeína, con un incremento correspondiente en la proteína soluble en álcali. Ahora bien, el análisis del contenido de aminoácido de esta última proteína indica que contiene cantidades apreciables de lisina, hecho que explica por qué el maíz con el gen *Opaque-2* es rico en este aminoácido.

El hallazgo de que el gen recesivo conocido como *Opaque-2*, controla la distribución de proteína en el grano de maíz, proporcionando más triptófano y lisina que el cereal de uso común es, por consiguiente, de suma importancia para la nutrición de aquellas poblaciones que acostumbran consumir maíz en su dieta básica.

Considerando que en varios países este cereal se procesa para su consumo en forma de tortilla o de atole, se estimó de interés establecer: si el maíz *Opaque-2*

\* Recibido para la publicación el 4 de setiembre de 1967.

1/ Trabajo presentado ante la XIII Reunión Anual del Programa Cooperativo Centroamericano para el Mejoramiento de Cultivos Alimenticios (PCCMCA) que se celebró en la ciudad capital de San José, República de Costa Rica, del 28 de febrero al 4 de marzo de 1967. Publicación INCAP T-2991.

\*\* Jefe de la División de Ciencias Agrícolas y de Alimentos del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá. Esta investigación se llevó a cabo con fondos provistos por los Institutos Nacionales de Salud (NIH) de los Estados Unidos de América (Subvención N° AM-3811).

podría procesarse como el maíz de uso corriente; si la tortilla preparada con él tenía el mismo sabor e igual textura que la tortilla común, y si el proceso afecta o no su valor nutritivo, además de evaluar en animales experimentales y en seres humanos la calidad de la proteína.

### Materiales y métodos

El proceso de preparación del maíz en tortilla, que comúnmente se acostumbra en los hogares centroamericanos, se describe en la Figura 1 (4, 5). Este mismo procesamiento fue el utilizado para preparar tortillas de maíz con el gen *Opaco-2\**, y de maíz corriente, como sigue. Primero se lavó el grano crudo, con agua, para eliminar materiales indeseables. Luego, a 12,5 Kg de maíz se le agregaron 24 litros de agua y 200 g de hidróxido de calcio (cal), y la mezcla se sometió a cocción durante 90 minutos, que es el tiempo requerido para que ésta entre en ebullición. Después de dejarlo en reposo, para su enfriamiento, el líquido de cocción se descartó y los granos, ya cocidos, se lavaron repetidas veces con agua hasta que ésta quedara completamente clara. Durante el lavado, los granos se frotaron unos con otros para eliminar la cáscara, la cual se desintegra durante la cocción. El grano de maíz, ya limpio, se molió para obtener la masa.

Parte de esa masa fue deshidratada por medio de una corriente de aire caliente a 80°C, y la otra parte se utilizó para elaborar las tortillas que, una vez hechas, se deshidrataron con aire caliente a la misma temperatura.

Una porción de las tortillas preparadas con maíz *Opaco-2* fue utilizada para el desarrollo de pruebas piloto de sabor y textura, en sujetos humanos, adultos.

El material obtenido por el proceso descrito, tanto del maíz *Opaco-2* como del grano de uso corriente, se analizó para determinar su contenido de proteína por el método de Kjeldahl (1), lisina, triptófano y niacina por métodos microbiológicos descritos anteriormente (15). La calidad de la proteína del maíz común y del *Opaco-2* y los respectivos productos del proceso fue estudiada en pruebas biológicas en ratas. Solamente la calidad de la proteína de la masa deshidratada del maíz *Opaco-2* fue estudiada en niños.

Para los estudios biológicos se emplearon ratas jóvenes recién destetadas de la raza Wistar de la Colonia del INCAP, utilizando ocho animales por grupo formado de 4 hembras y 4 machos. Las ratas fueron distribuidas según su peso inicial de tal manera que el peso promedio por grupo no variara en más de un gramo. Los animales fueron colocados en jaulas individuales de tela metálica con fondos levantados y recibieron el alimento y agua *ad libitum* por 28 días. Los aumentos en peso y el alimento consumido fueron medidos cada 7 días.

Los maíces crudos y sus productos fueron incluidos en una dieta basal de la siguiente composición: maíz, masa o tortilla (maíz común, *Opaco-2*) 90,0%, sales minerales (9) 4,0%, aceite de algodón refinado 5,0%, aceite de bacalao 1,0%, y 5 ml de una solución completa de vitaminas del complejo B (11) por 100 g de dieta. Como control se empleó caseína en cantidades equivalentes a 10% de proteína en la dieta. Para los estudios de suplementación con aminoácidos, el nivel de maíz en la dieta se redujo a 72%, con las mismas cantidades de los otros suplementos, el agregado de los aminoácidos, usando almidón para ajustar a 100%.

Para los estudios en seres humanos se emplearon cuatro niños de 24 a 72 meses de edad con un peso de 10,95 a 13,90 Kg. Fueron alimentados con leche íntegra deshidratada o la masa del maíz *Opaco-2* como única fuente de proteína, en una dieta adecuada en otros nutrientes. La calidad de la proteína fue medida por medio del balance de nitrógeno por metodología descrita anteriormente (14). El método consiste esencialmente en calcular la cantidad de nitrógeno retenido por el organismo, el cual se obtiene restando el nitrógeno fecal y de la orina del nitrógeno ingerido.

### Resultados

Los resultados de los análisis químicos se describen en el Cuadro 1. El maíz *Opaco-2* contiene mayores cantidades de lisina, triptófano y niacina que el maíz corriente que se usó en el presente estudio, a pesar de que esta última selección era de menor contenido en proteína total y acusaba cantidades más altas de lisina que el promedio de los maíces híbridos o de cultivo común. Se encontró también que contenía menores cantidades de zeína que la mayor parte de los maíces.

Los resultados en cuanto al crecimiento de las ratas, obtenidos en el primer estudio, se presentan en la Figura 2. Su examen hace evidente que el crecimiento de los animales alimentados con maíz crudo *Opaco-2* y con la masa y tortilla preparadas del mismo, fue superior

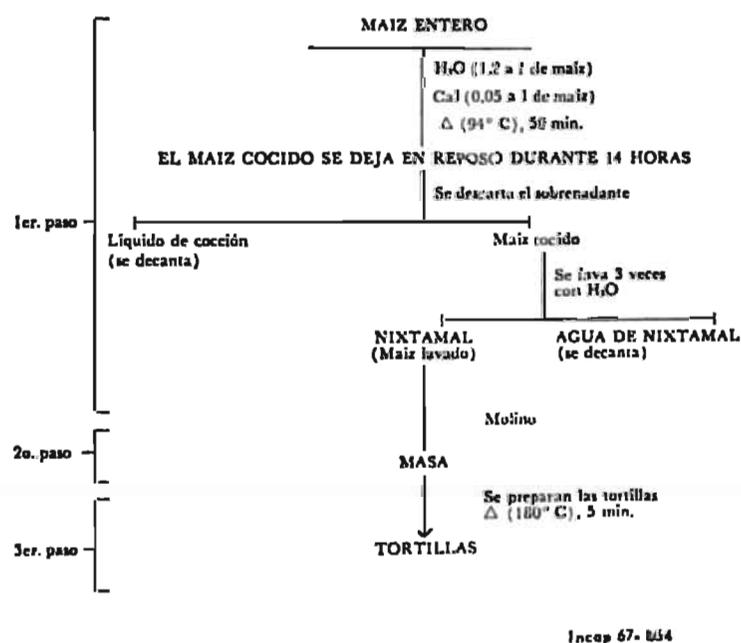
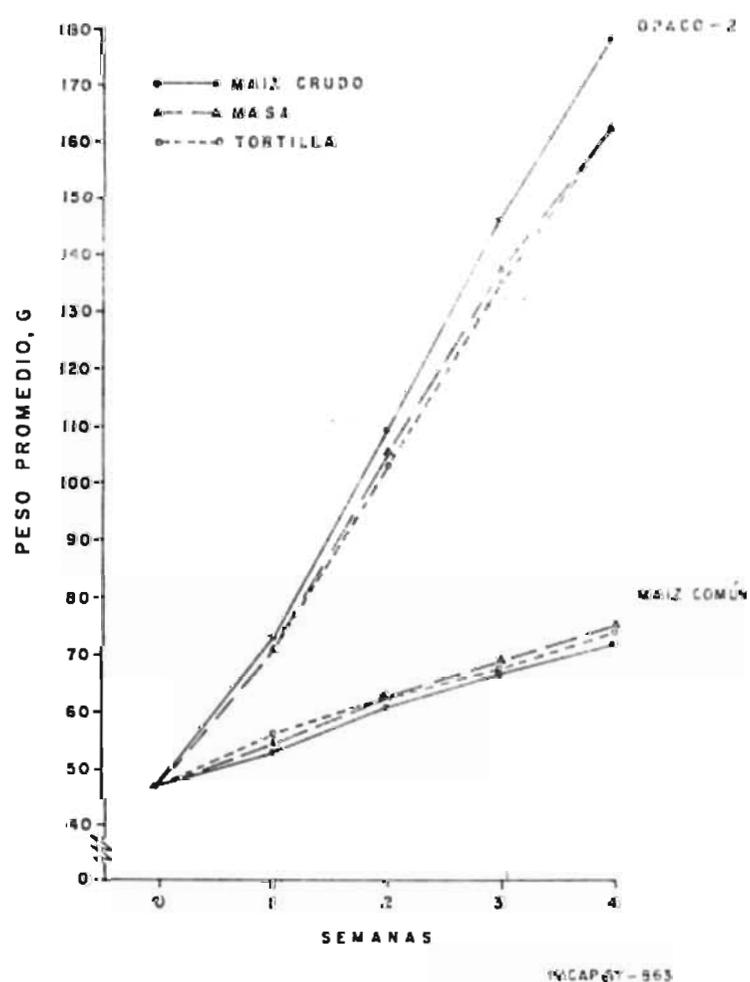


Fig. 1.—Preparación de la masa y de las tortillas del maíz.

\* El maíz *Opaco-2* que se usó en esta investigación fue gentilmente suministrado por el Dr. Edwin T. Mertz, Profesor de Bioquímica del Departamento de Bioquímica, Universidad de Purdue, Lafayette, Indiana, Estados Unidos de América.

Cuadro 1.—Contenido de lisina, triptófano y niacina del maíz común y de la variedad *Opaco-2*.

Maíz	Nitrógeno %	Lisina g/16 gN	Triptófano g/16 gN	Niacina mg/100g
Opaco-2				
Crudo.....	1,64	4,5	1,5	2,20
Masa.....	1,67	4,6	1,5	2,47
Tortilla.....	1,64	4,2	1,5	2,01
Común				
Crudo.....	1,16	3,6	0,62	1,62
Masa.....	1,12	3,1	0,57	1,63
Tortilla.....	1,06	3,1	0,49	1,87

Fig. 2.—Crecimiento de ratas alimentadas con maíz común y con *Opaco-2*.

desde un principio al de las ratas que consumieron maíz crudo corriente y sus preparaciones respectivas. Los datos sobre el valor nutritivo de la proteína se detallan en el Cuadro 2, pudiéndose apreciar que el aumento ponderal de los animales alimentados con *Opaco-2* fue aproximadamente cinco veces mayor que los incrementos en peso observados en las ratas que recibieron maíz corriente. En cuanto al índice de eficiencia proteica, el maíz *Opaco-2* y sus productos acusan valores 1,5 a 2

veces aproximadamente más altos que los del maíz corriente. Aparentemente, el proceso de cocción produce pequeños cambios en el valor nutritivo del maíz *Opaco-2* aunque éstos no son significativos. Según los datos del mismo Cuadro 2, el valor nutricional de la proteína del maíz *Opaco-2* equivale al 96% del de la caseína.

Con el propósito de determinar si la proteína del maíz *Opaco-2* acusaba aún las deficiencias de aminoácidos que son característica del maíz corriente, se llevaron a cabo diversos estudios de suplementación con aminoácidos. El Cuadro 3 muestra algunos resultados representativos de estos estudios, en cuyo desarrollo se emplearon dietas con 72% de maíz *Opaco-2* o de maíz corriente, las cuales se suplementaron sólo con lisina, con lisina y triptófano, y con lisina, triptófano e isoleucina, respectivamente. Salta a la vista un pequeño efecto en el aumento ponderal de las ratas, y en la razón de eficiencia proteica en el caso de las dietas a base de maíz *Opaco-2* a la que se adicionó lisina, pero no así cuando éstas fueron suplementadas con lisina más triptófano, o con lisina, triptófano e isoleucina. En el caso del maíz corriente, el agregado de lisina no tuvo ningún efecto, pero la adición simultánea de lisina más triptófano, y de los tres aminoácidos juntos (lisina + triptófano + isoleucina) aumentó tanto el peso de los animales, como el PER (índice de eficiencia proteica).

Los resultados del estudio en los cuatro niños se describen en el Cuadro 4. En este caso, los niños fueron alimentados con una dieta cuya proteína se derivaba de la leche, por un período de 13 días, y luego con una dieta a base del maíz *Opaco-2*. Se les proporcionó de 1,8 a 1,9 g de proteína/kg de peso corporal/día y 100 calorías/kg/día.

Los datos señalan que, a los niveles de ingesta proteica usados en este estudio, la retención del nitrógeno ingerido a través de la dieta con maíz *Opaco-2*, medida

Cuadro 2.—Aumento ponderal de las ratas e índice de eficiencia proteica del maíz *Opaco-2*, maíz común y caseína, respectivamente.

Dieta	Aumento ponderal promedio g	Índice de eficiencia proteica (PER)*
Maíz común		
Crudo.....	25 ± 6,5	1,49 ± 0,23
Masa.....	28 ± 6,8	1,66 ± 0,19
Tortilla.....	27 ± 6,0	1,55 ± 0,23
Maíz <i>Opaco-2</i>		
Crudo.....	130 ± 21,4	2,79 ± 0,24
Masa.....	115 ± 10,0	2,76 ± 0,13
Tortilla.....	115 ± 18,0	2,66 ± 0,14
Caseína.....	132 ± 20,4	2,88 ± 0,20

\* Peso promedio inicial, 47 g.

\* PER = g de aumento de peso/g de proteína consumida.

Cuadro 3.—Efecto de la suplementación, con aminoácidos del maíz *Opaco-2* y del maíz común.

Suplemento de aminoácidos	Aumento ponderal promedio g	Indice de eficacia proteica (PER) *
<b>Maíz Opaco-2</b>		
Dieta control.....	90 ± 12	2,72 ± 0,18
+ 0.40% lisina.....	96 ± 20	2,94 ± 0,25
+ 0.40% lisina + 0.10% triptófano.....	91 ± 16	2,82 ± 0,24
+ 0.40% lisina + 0.10% triptófano + 0.20% isoleucina.....	94 ± 18	2,96 ± 0,27
<b>Maíz común</b>		
Dieta control.....	38 ± 9	1,47 ± 0,27
+ 0.40% lisina.....	28 ± 14	1,41 ± 0,62
+ 0.40% lisina + 0.10% triptófano.....	75 ± 19	2,47 ± 0,27
+ 0.40% lisina + 0.10% triptófano + 0.20% isoleucina.....	77 ± 17	2,53 ± 0,32

Peso inicial, 47 g.

\* PER = g de aumento de peso/g de proteína consumida.

Cuadro 4.—Balance de nitrógeno en niños alimentados con proteína de leche o de maíz *Opaco-2*. (mg N/kg/día)

Nitrógeno	Leche	Dieta a base de:	
		Maíz <i>Opaco-2</i>	Leche
Ingerido.....	274 ± 15	300 ± 5	271 ± 10
Fecal.....	49 ± 25	71 ± 11	42 ± 22
Urinario.....	159 ± 22	142 ± 18	153 ± 28
Absorbido.....	225 ± 19	229 ± 13	229 ± 21
Retenido.....	66 ± 14	87 ± 19	76 ± 19
% de absorción.....	82,1	76,3	84,5
% de retención.....	24,1	29,0	28,0

sobre bases absolutas o en términos de porcentaje con respecto a la ingesta fue igual a la que se obtuvo con la leche. La digestibilidad aparente del nitrógeno es menor para el maíz *Opaco-2* que para leche.

Cuadro 5.—Balance de nitrógeno en niños alimentados a dos niveles con proteína de leche o de maíz común<sup>1</sup>. (mg N/kg/día).

Nitrógeno	Dieta a base de:			
	Leche		Maíz corriente	
	(a)	(b)	(a)	(b)
Ingerido.....	454	315	458	319
Fecal.....	93	54	114	65
Urinario.....	276	199	326	268
Absorbido.....	361	261	344	254
Retenido.....	85	62	18	-14
% de absorción.....	79,5	82,8	75,1	
% de retención.....	18,7	19,7	3,9	-4,4

Véase referencia (14).

Finalmente, en el Cuadro 5 constan los resultados del estudio en que se usó maíz corriente, en comparación con leche. En este caso las diferencias en retención de nitrógeno son altamente significativas entre la dieta a base de proteína de leche y la que se preparó con maíz corriente (14).

### Discusión

Los resultados de los estudios, tanto químicos como biológicos en ratas como en seres humanos jóvenes, indican claramente que la calidad de la proteína del maíz *Opaco-2* es significativamente superior a la del maíz común y parecida a la de proteínas de origen animal con las de la leche. También es importante indicar que la tortilla preparada del *Opaco-2* tiene una textura más suave que la del maíz corriente, así como un sabor ligeramente dulce. En todo caso, fue bien aceptada por las personas que participaron en las pruebas de aceptabilidad.

El alto valor nutritivo de la proteína del maíz *Opaco-2* puede explicarse en base al contenido más alto en este maíz de los aminoácidos esenciales lisina y triptófano en comparación con el maíz común. Esto fue demostrado en los estudios en los que el maíz *Opaco-2* y el maíz común fueron suplementados con lisina y triptófano. Aun cuando los resultados indicaron que el maíz *Opaco-2* es ligeramente deficiente en lisina, la adición de este aminoácido juntamente con triptófano no causaron cambio de ningún significado en la calidad de la proteína del maíz *Opaco-2*, pero sí en la del maíz corriente.

La deficiencia de estos dos aminoácidos en la proteína del maíz común y la mayor concentración de los mismos en el maíz *Opaco-2* proviene del hecho que aproximadamente 50% de la proteína total es zeína,

Cuadro 6.—Distribución de la proteína en el endosperma de diversas variedades de maíz<sup>1</sup>.

Variedad	Proteína %	Distribución			
		Insoluble	Soluble		
			en ácido %	en álcali %	alcohol %
Cuyuta.....	8,0	10,2	25,5	23,1	41,2
TGY.....	9,8	8,6	23,4	22,3	45,7
142-48.....	11,4	10,6	19,4	17,2	52,1
HP5 (EE.UU.).....	14,0	6,8	16,6	21,2	55,4
HP (EE.UU.).....	18,2	2,6	18,0	19,7	59,7
Opaco-2.....	10,2	—	24,7	41,3	17,2

<sup>1</sup> Véanse referencias (3) y (12).

Cuadro 7.—Consumo promedio de maíz, por persona y por día, en áreas rurales de Centro América y Panamá<sup>1</sup>.

País	Consumo de maíz g*	Calorías % del total	Proteína % del total
Panamá.....	69	11	8
Costa Rica.....	185	34	32
Nicaragua.....	300	57	40
Honduras.....	398	69	48
El Salvador.....	374	65	58
Guatemala.....	423	64	49

<sup>1</sup> Véase referencias (6) y (7).

\* FLORES, M. Datos inéditos.

Cuadro 8.—Consumo promedio de maíz, por persona y por día, en tres aldeas rurales de Guatemala<sup>1</sup>. (Niños preescolares)

Consumo de maíz g	Ingesta proteica	
	Maíz g	Total g
119	10,8	18,9
178	16,2	25,1
174	15,8	22,0

<sup>1</sup> Véase referencia (7).

mientras que en el maíz *Opaco-2* contiene aproximadamente la mitad. La zeína, proteína soluble en alcohol, no contiene lisina y sólo cantidades pequeñas de triptófano. Esto se puede apreciar estudiando el Cuadro 6 en el cual se resume la distribución de la proteína de cinco selecciones de maíces, las cuales fueron fraccionadas en nitrógeno insoluble, soluble en ácido, soluble en álcali y soluble en alcohol respectivamente (3, 12). Como puede notarse la mayor parte del nitrógeno del grano es soluble en alcohol o en forma de zeína. En ese mismo cuadro se resume la distribución de las proteínas del maíz *Opaco-2* y puede notarse que contiene menos zeína (proteínas solubles en alcohol) que las cinco selecciones de maíz común. Por el contrario, el maíz *Opaco-2* contiene doble cantidad de la fracción proteica soluble en álcali en comparación con los otros maíces. La proteína soluble en álcali, o glutelina es una proteína con un contenido relativamente alto en lisina y triptófano (10). Por consiguiente el maíz *Opaco-2* es más alto en el contenido de estos dos aminoácidos que el maíz común.

Es de mucho interés considerar el significado de la alta calidad nutritiva del maíz *Opaco-2* en términos de nutrición humana. Es bien sabido que la mayor parte de la población centroamericana sufre de varias deficiencias nutricionales entre las cuales la de proteína es la más importante sobre todo para la población joven (13). La deficiencia proteica de la población no sólo es de cantidad sino más bien de calidad. Datos representativos del consumo de maíz por adultos en Centroamérica se exponen en el Cuadro 7. En este cuadro se puede notar que el maíz proporciona del 11 al 69% de la ingesta diaria de calorías y del 8 al 58% de la ingesta de proteína. Datos representativos para niños preescolares de tres aldeas rurales de Guatemala se presentan en el Cuadro 8. En este caso la ingesta de proteína del maíz varía entre 57 al 72% de la ingesta total (7). Usando 9% como el promedio del contenido de proteína del maíz en Centro América, la ingesta de proteína de maíz para adultos varía de 6 a 38 g y para pre-escolares de 11 a 16 g por día. Ahora bien, el valor biológico de la proteína del maíz común es alrededor del 50%, o sea de las ingestas arriba indicadas, solamente se utilizan la mitad o sea de 3 a 19 gramos por los adultos y de 5 a 8 g por los niños. Si en lugar de maíz común, el consumo fuera de maíz *Opaco-2*, en base al valor biológico de 80,0%, las ingestas de proteína utilizada por el organismo humano serían de 5 a 30 g para adultos y de 9 a 13 g para pre-escolares. Estos datos significan por consiguiente no sólo una mejora significativa en el estado nutricional de la población sino también una mayor economía en el uso del maíz suponiendo que el volumen que éste aporta sea contribuido por otros alimentos.

La importancia del maíz *Opaco-2* en nutrición animal también debe de considerarse, ya que las raciones de aves y cerdos se elaboran en muchos casos a base de maíz. Datos preliminares indican que el maíz *Opaco-2* puede ser de mucho valor para la industria animal.

Los datos de este estudio demuestran por lo tanto que la proteína del maíz *Opaco-2* es a no dudar de alta calidad nutricional. Sin embargo, este importante hallazgo no pasaría de ser un descubrimiento de interés científico, a menos que se hagan esfuerzos efectivos por introducir ese gen en los maíces de cultivo local que las poblaciones del área acostumbra para su propio consumo o para la industria animal.

### Resumen

Se describen los resultados de un trabajo encaminado a establecer diferencias en el contenido de ciertos aminoácidos, distribución de la proteína y valor proteico del maíz de cultivo común y del maíz con el gen recesivo conocido como gen *Opaco-2*, procesados ambos en forma de tortilla, que es como se acostumbra consumir este cereal en este Istmo centroamericano. Los hallazgos revelaron que los maíces corrientes contienen cantidades menores de lisina y de triptófano que el maíz *Opaco-2*. Asimismo, pudo determinarse que este último tiene una cantidad significativamente menor de zeína —proteína soluble en alcohol— que los maíces corrientes. Ello explica el por qué del mayor contenido de lisina en el *Opaco-2*, ya que la zeína es deficiente en este aminoácido.

Los ensayos biológicos realizados en ratas demostraron que la proteína del maíz *Opaco-2* es nutricionalmente superior a la del cereal común, y que su valor proteico equivale al 96% del de la caseína. Mediante estudios posteriores en niños, pudo establecerse también que su valor biológico equivalía al 90% del de la proteína de leche.

A partir de los estudios descritos, se llegó a la conclusión de que el maíz con el gen *Opaco-2* puede procesarse en forma de tortilla con la misma facilidad que el maíz de consumo común, siendo las tortillas elaboradas a base del primero, similares en textura y sabor que las hechas con maíz corriente.

### Literatura citada

1. ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. Official methods of analysis of the A.O.A.C. 9th. ed. Washington, D. C., The Association, 1960. 832 p.
2. BRESSANI, R., ELIAS, L. G. y BRAHAM, J. E. Suplementación con aminoácidos del maíz y de la tortilla. Manuscrito en preparación.
3. BRESSANI, R. y MERTZ, E. T. Studies on corn proteins. IV. Protein and amino acid content of different corn varieties. *Cereal Chemistry*, 35:227-235. 1958.
4. ———, PAZ Y PAZ, R. y SCRIMSHAW, N. S. Corn nutrient losses; chemical changes in corn during preparation of tortillas. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 6:770-774. 1958.
5. ——— y 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. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 6:774-778. 1958.
6. FLORES, M. Food patterns in Central America and Panama. In *Tradition science and practice in dietetics. Proceedings of the 3rd International Congress of Dietetics*. London, July 10-14, 1961. Yorkshire, Great Britain, Wm. Byles & Sons Limited of Bradford, 1961. pp. 23-27.
7. ———, *et al.* Annual patterns of family and children's diet in three Guatemalan Indian communities. *British Journal of Nutrition*, 18:281-293. 1964.
8. GILLESPIE, G. T. *et al.* Nicotinic acid, lysine, tryptophan and threonine as supplements to high-protein corn. Columbia, Missouri, Agriculture Experimental Station Research Bulletin 679, 1958. 16 p.
9. HEGSTED, D. M. *et al.* Choline in the nutrition of chicks. *Journal of Biological Chemistry*, 138:459-466. 1941.
10. LLOYD, N. E. y MERTZ, E. T. Studies on corn proteins. III. The glutelins of corn. *Cereal Chemistry*, 35:156-168. 1958.
11. MANNA, L. y HAUGE, S. M. A possible relationship of vitamin B<sub>12</sub> to orotic acid. *Journal of Biological Chemistry*, 202:91-96. 1953.
12. MERTZ, E. T., BATES, L. S. y NELSON, O. E. Mutant gene that changes protein composition and increases lysine content of maize endosperm. *Science*, 145:279-280. 1964.
13. SCRIMSHAW, N. S. y BEHAR, M. Protein malnutrition in young children. *Science*, 133:2039-2047. 1961.
14. ———, *et al.* 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. *Journal of Nutrition*, 66:485-499. 1958.
15. STEELE, B. F. *et al.* Media for *Leuconostoc mesenteroides* P-60 and *Leuconostoc citrovorum* 8081. *Journal of Biological Chemistry*, 177:533-544. 1949.