Separata de Archivos Latinoamericanos de Nutrición, Vol. XIX, Nº 3, septiembre 1969

Mejoramiento del valor nutritivo de dietas de consumo humano

II. Suplementación, con Mezcla Vegetal INCAP 9, y Leche[1]

J. Edgar Braham[2], Marina Flores[3], Luiz G. Elías[4], Silvia de Zaghi[4] y Ricardo Bressani[5]
Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), Guatemala, C. A.

RESUMEN

Se evaluó el efecto que la suplementación con leche, con Mezcla Vegetal INCAP 9 o con una combinación de ambas, tiene sobre la calidad nutricional de la dieta del niño preescolar de una comunidad rural guatemalteca. El estudio incluyó mediciones de crecimiento y del índice de eficiencia proteica, así como determinaciones de la composición del suero sanguíneo, hígado, huesos y carcás de ratas alimentadas con la dieta basal y con los suplementos, a concentraciones de 1, 2, 3 ó 4 gramos por día. Los resultados indican que la Mezcla Vegetal INCAP 9, la leche o una combinación, en partes iguales, aumentan las variables biológicas estudiadas, siendo más efectiva la suplementación con leche. La menor efectividad de la Mezcla Vegetal a este respecto se adscribe al bajo nivel de proteína usado en la presente investigación, a la menor digestibilidad que, en comparación con la leche, tiene ese producto, y al hecho de que tanto la mezcla como la dieta tienen deficiencia común de lisina.

---

1 Esta investigación se llevó a cabo con ayuda financiera del Consejo Nacional de Investigaciones (NRC) (Subvención No. RF-NRC-1), y de los Institutos Nacionales de Salud (NIH) del Servicio de Salud Pública de los Estados Unidos de América (Subvención No. A-981).

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

3 Jefe del Servicio de Investigaciones Dietéticas, División de Nutrición Aplicada del INCAP.

4 Científicos de la División de Ciencias Agrícolas y de Alimentos del Instituto.

5 Jefe de la citada División.

Publicación INCAP E-410
Recibido: 3-2-1969

INTRODUCCION

Las fuentes de proteína animal en las regiones rurales son escasas y, cuando existen, están fuera del alcance económico de los pobladores. Esta es, pues, la razón fundamental por la que el Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP) ha trabajado asiduamente en el desarrollo de mezclas de proteínas de origen vegetal que puedan complementar, con proteína de buena calidad, la dieta habitual de los pobladores del medio rural de los países en vías de desarrollo. La Mezcla Vegetal INCAP 9, una de las diversas fórmulas que se identifican con el nombre "Incaparina", ha tenido resultados muy satisfactorios, a juzgar por su composición química (1) y los hallazgos de estudios realizados en niños en la etapa de recuperación y ya recuperados del síndrome pluricarencial de la infancia (2), así como de investigaciones biológicas llevadas a cabo en animales de experimentación (3). Su costo está al alcance de las poblaciones que más lo necesitan y un vaso de Incaparina aporta la misma cantidad de proteína que uno de leche, con un valor biológico muy similar.

La Mezcla Vegetal INCAP 9 ha sido diseñada con el objeto de mejorar el nivel nutricional de la población infantil, grupo en el que los efectos de la desnutrición son más devastadores. Ello es cierto no sólo desde los puntos de vista de morbilidad y mortalidad, sino también en cuanto a desarrollo y crecimiento físico normales; no menos importante, existe información sugerente de que, además, puede afectar el desarrollo mental adecuado (4).

El propósito que guió el desarrollo de esta investigación fue observar, en ratas, el efecto que la administración de la dieta que regularmente consumen los preescolares de las poblaciones rurales del altiplano guatemalteco, suplementada con la Mezcla Vegetal INCAP 9, ejerce sobre el crecimiento de dichos animales a diferentes niveles de ingesta proteica.

MATERIAL Y METODOS

La comunidad seleccionada fue Santa Catarina Barahona, departamento de Sacatepéquez, a una altura de 2,100 metros sobre el nivel del mar. Sus características socioeconómicas, así

como la dieta habitual del niño preescolar, han sido descritas en una publicación previa (5). Las cantidades promedio de los diferentes alimentos consumidos por el preescolar se multiplicaron 50 veces o más. La dieta modelo fue preparada en la misma comunidad de acuerdo a las costumbres tradicionales y se transportó en recipientes de vidrio a los laboratorios centrales del INCAP para análisis químico y evaluación biológica, aspectos sobre los cuales también se dio cuenta en el artículo antes mencionado (5).

Estudios de suplementación

Se usaron ratas Wistar de la colonia animal del INCAP, de 21 a 22 días de edad, distribuidas en grupos de 8 (4 hembras y 4 machos) cada uno. Las diferentes dietas y el agua fueron administradas sin ninguna restricción por un período de seis semanas. La eficiencia proteica se determinó a las cuatro semanas y durante todo el período experimental se recabaron datos semanales de peso y consumo del alimento. Uno de los grupos (testigo) no recibió ninguna suplementación, mientras que a 4 grupos se les administró diariamente, como suplemento, 1, 2, 3 y 4 gramos de Mezcla Vegetal 9, a otros 4 grupos se les administró las mismas cantidades de leche descremada y a otros 4 grupos más, una combinación de partes iguales de ambos suplementos. Por último, dos grupos adicionales recibieron, uno de ellos, 3 g de la Mezcla Vegetal 9 en días alternos, y el otro, 3 g de leche en condiciones similares. El suplemento fue colocado en una copa por un período de 1 hora, tiempo que se encontró era suficiente para que los animales lo consumieran todo.

Al final del período experimental los animales fueron sacrificados con cloroformo e inmediatamente decapitados, recogiéndose la sangre en tubos de ensayo con y sin oxalato de potasio para determinación de los siguientes valores: hemoglobina, por el método de Cannan (6); el hematocrito, según Wintrobe (7); proteínas totales, por el procedimiento de Lowry y Hunter (8); albúmina, de acuerdo a la técnica de Lowry y colaboradores (9), y nitrógeno de urea, por la técnica de Gentzkow y Mosen (10).

El resto del animal fue eviscerado para analizar separadamente el hígado, el bazo, los riñones y el corazón de cada ani-

mal. Los órganos fueron pesados y el hígado se sometió a análisis para establecer su contenido de proteínas, ceniza, grasa y humedad, según los métodos de la A.O.A.C. (11). Se disecaron los dos fémures de cada rata, preparándose y analizándose de acuerdo al procedimiento descrito por Braham y colaboradores (12). Por último, se examinó el carcás en su totalidad, determinándose así su contenido de humedad, grasa y proteínas.

RESULTADOS

Los hallazgos en cuanto al crecimiento de los animales y eficiencia proteica obtenidos al suplementar la dieta de Santa Catarina Barahona con 1, 2, 3 y 4 g de Mezcla Vegetal INCAP 9, de leche o de una combinación de ambos, por partes iguales, se resumen en el Cuadro Nº 1. Los dos parámetros indican que los dos suplementos y la combinación de ambos complementan efectivamente la dieta basal; sin embargo, la leche es una mejor fuente de suplementación que la Mezcla Vegetal 9, y la combinación de ambas produce un efecto intermedio.

En el Cuadro Nº 2 constan los valores séricos y en sangre total de las ratas alimentadas con la dieta de Santa Catarina Barahona, enriquecida con los complementos citados en el párrafo anterior. En este caso, el contenido de proteína sérica y de globulina fue significativamente más alto ($P<0.01$) en las ratas que recibieron la dieta suplementada con leche, mientras que la relación albúmino-globulina fue significativamente menor ($P<0.01$). El resto de las determinaciones séricas no mostraron diferencias de significado estadístico entre los diferentes tratamientos. En el caso de la hemoglobina, los valores fueron significativamente más altos ($P<0.05$) con cualquiera de los suplementos usados en mayor nivel, que con las dietas administradas por sí solas.

Los resultados de los análisis realizados en los fémures de los diferentes grupos experimentales constan en el Cuadro Nº 3. Según se aprecia, el contenido de humedad fue significativamente menor ($P<0.01$) en los huesos de los animales cuya dieta se suplementó con la Mezcla Vegetal 9, y el contenido de grasa significativamente mayor ($P<0.05$) en las ratas alimentadas con la dieta suplementada con la Mezcla Vege-

CUADRO Nº 1

PESO FINAL Y EFICIENCIA PROTEICA EN RATAS ALIMENTADAS CON LA DIETA DE SANTA CATARINA BARAHONA SUPLEMENTADA CON MEZCLA VEGETAL INCAP 9, O CON LECHE

Tratamiento	Peso final* g	D. E.	E.P.
Control	115	13	1.61
1 g MV9	124	12	1.68
2 g MV9	134	10	1.67
3 g MV9	149	15	1.67
4 g MV9	157	19	1.67
1 g leche	139	6	2.00
2 g leche	166	20	2.16
3 g leche	191	24	2.21
4 g leche	210	37	2.22
1 g MV9 +1g leche	138	13	1.99
2 g MV9 + 2 g leche	161	12	2.11
3 g MV9 + 3 g leche	181	18	2.16
4 g MV9 + 4 g leche	184	16	2.03
3 g MV9, días alternos	131	11	-
3 g leche, días alternos	154	16	-

* Peso promedio inicial: 52 g
D. E. = Desviación Estándar.
E. P. = Eficiencia proteica: gramos de aumento de peso/g de proteína ingerida.

CUADRO Nº 2

VALORES SANGUINEOS Y SERICOS DE RATAS ALIMENTADAS CON LA DIETA DE SANTA CATARINA BARAHONA SUPLEMENTADA CON MEZCLA VEGETAL INCAP 9 Y CON LECHE

Tratamiento	Proteína		Albúmina		Globulina		Relación A/G		N de urea		Hemoglobina		Hematocrito	
	g%	D.E.	g%	D.E.	g%	D.E.		D.E.	mg	D.E.	g%	D.E.	%	D.E.
Control	5.27	0.45	3.02	0.26	2.24	0.44	1.39	0.31	18.6	5.1	13.7	0.6	44	4
1 g MV9	4.98	0.18	2.88	0.24	2.10	0.15	1.38	0.19	19.5	2.6	13.4	0.1	40	3
2 g MV9	5.23	0.14	2.80	0.31	2.43	0.36	1.18	0.21	18.4	2.4	13.9	0.6	44	3
3 g MV9	5.24	0.32	2.89	0.21	2.35	0.24	1.24	0.16	14.7	2.6	14.0	0.7	42	3
4 g MV9	5.30	0.35	3.03	0.11	2.27	0.33	1.36	0.22	13.9	2.2	14.0	0.7	41	2
1 g leche	5.31	0.22	2.99	0.31	2.32	0.28	1.32	0.27	16.3	1.7	13.4	0.9	44	2
2 g leche	5.58	0.52	3.08	0.19	2.49	0.67	1.33	0.41	18.1	2.0	14.3	1.2	44	4
3 g leche	5.62	0.25	2.90	0.20	2.72	0.23	1.07	0.13	13.2	2.7	13.6	1.0	45	5
4 g leche	5.90	0.21	3.02	0.29	2.88	0.34	1.07	0.24	14.3	3.0	14.3	0.3	42	4
1 g MV9 + 1 g leche	5.06	0.27	2.90	0.22	2.16	0.27	1.36	0.22	12.6	4.7	13.2	0.7	40	4
2 g MV9 + 2 g leche	5.28	0.51	2.94	0.14	2.34	0.51	1.31	0.36	14.8	6.7	13.3	0.4	38	2
3 g MV9 + 3 g leche	5.76	0.25	2.91	0.17	2.85	0.24	1.02	0.11	14.8	3.0	14.3	0.8	42	5
4 g MV9 + 4 g leche	5.85	0.20	3.07	0.23	2.78	0.26	1.12	0.18	17.2	5.0	14.5	0.4	39	1
3 g MV9, días alternos	5.30	0.41	2.74	0.14	2.56	0.42	1.09	0.18	23.1	3.4	13.5	0.5	39	3
3 g leche, días alternos	5.32	0.33	2.90	0.30	2.42	0.47	1.25	0.33	25.4	5.3	14.2	0.5	38	3

CUADRO Nº 3

COMPOSICION QUIMICA DE LOS HUESOS DE RATAS ALIMENTADAS CON LA DIETA DE SANTA CATARINA BARAHONA SUPLEMENTADA CON MEZCLA VEGETAL INCAP 9 Y CON LECHE

Tratamiento	% de peso en base fresca								% de ceniza			
	Humedad		Grasa		Ceniza		Proteína		Calcio		Fósforo	
	$\bar{x}$	D.E.	$\bar{x}$	D.E.	$\bar{x}$	D.E.	$\bar{x}$	D.E.	$\bar{x}$	D.E.	$\bar{x}$	D.E.
Control	51.7	2.2	6.9	1.1	26.3	2.1	24.8	1.7	22.80	2.86	18.84	3.11
1 g MV9	33.5	3.0	8.4	3.1	33.8	1.9	31.5	4.9	23.44	3.23	20.71	5.18
2 g MV9	37.9	3.8	6.1	1.2	33.4	3.0	29.9	1.6	21.66	2.25	18.33	2.15
3 g MV9	40.0	3.3	5.5	1.4	33.1	2.3	28.6	2.9	23.46	4.31	21.50	4.50
4 g MV9	42.7	3.8	5.5	1.0	33.5	1.8	27.0	2.2	22.72	2.53	11.66	1.11
1 g leche	42.2	3.2	4.3	1.9	32.3	2.0	24.7	1.1	27.36	4.42	13.40	1.34
2 g leche	43.4	2.3	3.0	1.2	31.3	1.7	24.1	1.0	28.64	2.58	14.38	1.04
3 g leche	43.8	3.4	1.4	1.1	30.8	1.2	24.7	1.3	31.63	10.36	14.81	2.92
4 g leche	41.1	3.2	1.4	1.7	31.6	1.3	25.3	1.2	32.84	4.72	15.98	2.13
1 g MV9 + 1 g leche	47.7	1.5	3.4	1.1	30.0	2.6	23.7	2.1	26.04	4.35	14.62	4.94
2 g MV9 + 2 g leche	48.9	2.9	3.4	1.2	29.8	1.6	23.9	2.9	23.25	1.45	10.51	0.68
3 g MV9 +3 g leche	45.4	5.6	2.2	2.0	30.6	2.3	23.9	2.4	29.12	2.76	14.27	4.82
4 g MV9 + 4 g leche	46.2	4.2	0.8	0.6	31.0	1.0	23.6	3.1	30.10	4.01	13.56	3.20
3 g MV9, días alternos	49.9	1.1	3.5	2.2	32.0	5.0	24.0	3.2	22.24	4.75	12.26	2.42
3 g leche, días alternos	48.8	2.4	1.3	1.0	28.7	2.5	23.6	2.8	31.97	4.21	15.04	1.43

CUADRO Nº 4
PESO DE ORGANOS Y COMPOSICION DEL HIGADO DE RATAS ALIMENTADAS CON LA DIETA DE SANTA CATARINA BARAHONA, SUPLEMENTADA CON MEZCLA VEGETAL INCAP 9 Y CON LECHE

Tratamiento	Peso de órganos, g						Hígado, g %			
	Hígado		Riñones		Corazón		Grasa*		Proteína**	
	X	D.E.	X	D.E.	X	D.E.	X	D.E.	X	D.E.
Control	6.34	0.79	1.13	0.12	0.58	0.08	0.24	0.03	66.14	1.84	13.96	1.34	48.94	1.94
1 g MV9	6.26	0.80	1.21	0.08	0.54	0.04	0.28	0.03	68.46	1.32	16.08	5.21	49.09	4.96
2 g MV9	6.48	0.78	1.25	0.12	0.60	0.06	0.33	0.05	70.68	1.08	10.32	2.56	54.45	1.69
3 g MV9	7.28	1.30	1.41	0.42	0.70	0.09	0.39	0.03	71.97	1.10	14.44	3.29	57.04	3.05
4 g MV9	7.06	1.42	1.34	0.22	0.66	0.12	0.42	0.05	74.29	2.07	11.21	2.29	60.02	2.89
1 g leche	7.17	0.92	1.32	0.22	0.65	0.09	0.34	0.05	72.00	1.44	14.25	2.47	58.99	5.42
2 g leche	8.15	1.64	1.56	0.23	0.66	0.08	0.46	0.13	73.55	2.28	14.48	3.33	60.80	3.39
3 g leche	8.34	2.06	1.71	0.24	0.81	0.13	0.58	0.21	71.33	6.23	10.26	1.60	60.07	3.34
4 g leche	10.01	2.01	1.74	0.34	0.84	0.16	0.50	0.13	72.64	0.52	14.47	2.62	59.76	2.00
1 g MV9+1 g leche	7.22	0.41	1.29	0.08	0.65	0.06	0.33	0.06	73.38	1.12	13.93	3.06	49.30	1.42
2 g MV9+2 g leche	8.13	0.90	1.52	0.16	0.72	0.10	0.42	0.04	72.11	1.64	11.51	1.90	51.57	2.23
3 g MV9+3 g leche	8.52	1.38	1.77	0.33	0.78	0.09	0.50	0.06	71.12	2.26	12.86	2.90	46.42	3.04
4 g MV9+4 g leche	8.60	1.26	1.66	0.21	0.75	0.14	0.46	0.12	74.76	1.40	9.65	3.13	65.23	6.30
3 g MV9, días alternos	7.00	1.27	1.24	0.10	0.60	0.08	0.33	0.07	76.13	1.31	14.95	1.42	50.07	8.90
3 g leche, días alternos	7.63	1.10	1.44	0.14	0.67	0.08	0.34	0.02	73.14	1.40	13.22	1.88	55.22	2.63

* Base seca
** Base desengrasada

tal 9, y altamente significativa ($P<0.01$) en aquellas cuya dieta se complementó con leche o con la combinación de leche y Mezcla Vegetal 9. El contenido de ceniza y el de proteína no acusó variaciones significativas para ninguno de los tratamientos, mientras que el contenido de calcio reveló un aumento significativo ($P<0.05$) en el caso de leche y de la combinación de los dos suplementos, siendo el contenido de fósforo significativamente mayor ($P<0.01$) en los huesos de los animales alimentados con la dieta suplementada con la Mezcla Vegetal INCAP 9.

En lo que respecta al peso de los órganos y a la composición del hígado de las ratas sometidas a los diferentes tratamientos dietéticos (Cuadro Nº 4), el peso del hígado no mostró diferencias significativas para ninguno de los tratamientos; el peso de los riñones fue significativamente mayor ($P<0.05$) en los animales cuya dieta se suplementó con leche, y altamente significativo ($P<0.01$) en los animales alimentados con la combinación de leche y Mezcla Vegetal 9. En cuanto al peso del corazón, éste fue significativamente mayor ($P<0.05$), tanto en las ratas cuya dieta se suplementó con leche como en aquellas cuya dieta fue complementada con la Mezcla Vegetal INCAP 9; el bazo acusó un peso significativamente más alto ($P<0.01$) en los animales que recibieron la dieta con el agregado de la Mezcla Vegetal 9 o leche ($P<0.05$).

La composición del hígado mostró cantidades significativamente menores ($P<0.01$) de agua y mayores de grasa ($P<0.05$) en los animales que recibieron la dieta con el suplemento de la Mezcla Vegetal 9. La cantidad de proteína en el hígado aumentó significativamente ($P<0.01$) con la adición de Mezcla Vegetal INCAP 9, o con la combinación de los dos suplementos.

DISCUSION

Los estudios de suplementación de la dieta de Santa Catarina Barahona con la Mezcla Vegetal INCAP 9 ponen de manifiesto un aumento en peso, pero no un índice de eficiencia proteica superior al obtenido con la dieta original; estos parámetros, sin embargo, no alcanzaron los que se observaron cuando se suplementó la dieta con leche. Son varias las ra-

zones de estos hallazgos. En primer lugar, la suplementación se llevó a cabo a un nivel bajo de proteína, ya que el mayor complemento consistió en 4 g de Mezcla Vegetal 9, lo que equivale a más o menos 1.1 g de proteína por día. A este bajo nivel de ingesta proteica, las deficiencias de aminoácidos de la Mezcla —que es de contenido ligeramente bajo en lisina— tenderían a manifestarse, sobre todo cuando se considera que la dieta de Santa Catarina Barahona es también deficiente en lisina (13). En segundo lugar, la Mezcla INCAP 9 tiene un coeficiente de digestibilidad menor que el de la leche (14), debido en parte al hecho de que la digestibilidad de la proteína de la semilla de algodón se reduce a causa de las temperaturas altas que se emplean en la extracción del aceite (15). Esto da lugar a ciertas reacciones químicas entre carbohidratos y proteínas que inducen una reducción en la digestibilidad de las mismas. Desde luego, estas consideraciones de ningún modo invalidan la suplementación, con un concentrado proteico, de dietas para consumo humano que —como las estudiadas en este trabajo— son tan deficientes en proteína de buena calidad, sobre todo cuando dicha complementación puede hacerse cotidianamente y a niveles apropiados de ingesta en el niño preescolar. Sin embargo, los datos indican la importancia de desarrollar mezclas ricas en proteína tomando en consideración la calidad y cantidad de proteína de la dieta que va a ser suplementada.

Los estudios realizados por Bressani (3) en ratas en proceso de crecimiento han demostrado que aun la suplementación esporádica de la dieta, una vez por semana, con la Mezcla Vegetal 9, redunda en mejor crecimiento y mayor eficiencia proteica de los animales. Si estos resultados se extrapolan a la dieta humana, sobre todo a la del preescolar, no sería remoto que los países en proceso de desarrollo pudiesen resolver el problema de la desnutrición proteica suplementando su dieta habitual con mezclas vegetales elaboradas y desarrolladas científicamente a base de productos nativos. Debe hacerse énfasis también en la necesidad de que las fuentes de proteína de origen animal sean incrementadas a fin de que estén al alcance económico de toda la población, ya que con sólo pequeñas adiciones de ellas se logra un mejor nivel nutritivo de las dietas. Evidentemente, la aplicación de estas medidas es muy deseable, puesto que, por su medio, podrían obviarse las deficiencias nutricionales prevalentes en estas poblaciones, entre ellas la de proteína de buena calidad.

SUMMARY

Improvement of the nutritive value of diets for human consumption

II. Suplementation with Vegetable Mixture INCAP 9, and Milk

The effect of the suplementation of INCAP Vegetable Mixture 9, milk and a combination of both on the preschool child's diet of Santa Catarina Barahona in the higlands of Guatemala was studied.

The use of either supplement increased the biological parameters studied, with milk giving the best results. The lesser effect of INCAP Vegetable Mixture 9 was ascribed to the fact that the level of protein used was relatively low, thus increasing the effect of the main amino acid deficiencies in this product, and also to the lower digestibility of the mixture as compared to that of milk.

The possibility of using vegetable mixtures in underdeveloped areas to alleviate protein deficiency, is discussed.

BILIOGRAFIA

(1) Bressani, R., L. G. Elías, A. Aguirre & N. S. Scrimshaw.—All-vegetable protein mixtures for human feeding. III. The development of INCAP Vegetable Mixture Nine. **J. Nutrition**, 74: 201-208, 1961.

(2) Arroyave, G., D. Wilson, M. Béhar & F. Viteri.—The development of INCAP vegetable mixtures. II. Biochemical testing. En: National Research Council. Progress in meeting protein needs of infants and preschool children proceeding of an International Conference held in Washington, D. C., August 21-24, 1960. National Academy of Sciences - National Research Council, 1961, p. 49-55. Publication 843.

(3) Bressani, R., J. E. Braham, R. Jarquín & L. G. Elías.—Mezclas de proteínas vegetales para consumo humano. IX. Evaluación del valor nutritivo de la proteína de la Mezcla Vegetal INCAP 9 en diversos animales de experimentación. **Arch. venezol. Nutrición**, 12: 229-244, 1962.

(4) Cravioto, J.—Appraisal of the effect of nutrition on biochemical maturation. **Am. J. Clin. Nutrition**, 11: 484-492, 1962.

(5) Braham, J. E., M. Flores, L. G. Elías, S. de Zaghi & R. Bressani.—Mejoramiento del valor nutritivo de dietas de consumo humano. I. Evaluación dietética, química y biológica de la dieta del niño preescolar en tres comunidades rurales de Guatemala. **Arch. Latinoamer. Nutr.** Vol. XIX, Nº 3, septiembre 1969.

(6) Cannan, R. K.—Proposal for a certified standard for use in hemoglobinometry. **Clin. Chem.**, 4: 246-251, 1958.

(7) Wintrobe, M. M.—Clinical hematology. 3d ed. Philadelphia, Lea and Febiger, 1951, p. 303-305.

(8) Lowry, O. H. & T. B. Hunter.—The determination of serum protein concentration with a gradient tube. J. Biol. Chem., 159: 465-474, 1945.

(9) Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr & R. J. Randall.—Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193: 265-275, 1951.

(10) Gentzkow, C. J. & J. M. Mosen.—An accurate method for the determination of blood urea nitrogen by direct nesslerization. J. Biol. Chem., 143: 531-544, 1942.

(11) Association of Official Agricultural Chemists Official methods of analysis of the Association of Official Agricultural Chemists. 9th ed. Washington, D. C., 1960.

(12) Braham, J. E., C. Tejada, M. A. Guzmán & R. Bressani.—Chemical and histological changes in the femurs of chicks fed lysine-deficient diets. J. Nutrition, 74: 363-375, 1961.

(13) Braham, J. E., R. Bressani, S. de Zaghi & M. Flores.—Supplementary value of INCAP Vegetable Mixture 9 for the diets of average school children in rural Guatemala. J. Agr. Food Chem., 13: 594-597, 1965.

(14) Scrimshaw, N. S., M. Béhar, D. Wilson, F. Viteri, G. Arroyave & R. Bressani.—All-vegetable protein mixtures for human feeding V. Clinical trials with INCAP Mixtures 8 and 9 and with corn and beans. Am. J. Clin. Nutrition, 9: 196-205, 1961.

(15) Braham, J. E., L. G. Elías & R. Bressani.—Factors affecting the nutritional quality of cottonseed meals. J. Food Sci., 30: 531-537. 1965.