

# Deficiencia a las vitaminas B en el Perú

ALBERTO GUZMÁN BARRÓN\*

Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima. Facultad de Medicina.  
Instituto de Bioquímica y Nutrición.

En un trabajo que publicamos anteriormente (1) presentamos un resumen de nuestros estudios en relación a los estados de deficiencia a las vitaminas del complejo B (tiamina, riboflavina, niacina). Ahora vamos a relatar con más detalles los resultados que hemos obtenido, a la vez que haremos los comentarios del caso. Esta publicación tiene, sobre todo, por finalidad llamar una vez más la atención del Estado y otras instituciones que tienen la responsabilidad de cuidar de la buena alimentación de sanos y enfermos sobre la necesidad que hay de enriquecer la harina o el arroz con vitaminas del complejo B, ya que en numerosos trabajos nacionales se ha demostrado que la deficiencia a estas vitaminas alcanza a casi todos los habitantes del Perú.

## METODOS Y RESULTADOS OBTENIDOS

Para el reconocimiento de los estados de deficiencia nutricional se cuenta con tres recursos fundamentales (2): a) estudios del régimen alimenticio; b) examen antropométrico y clínico, este último destinado especialmente a la constatación de estados carenciales; c) pruebas de laboratorio que presten ayuda en el diagnóstico de los estados de déficits nutritivos; d) si es posible, un nuevo estudio, luego de corregir las fallas alimenticias, es la llamada prueba terapéutica.

### *Estudio del régimen alimenticio*

Existen numerosas contribuciones en relación al estudio de las dietas consumidas en diversas regiones del país, pero

---

\* Trabajo realizado en el Instituto de Bioquímica y Nutrición de la Facultad de Medicina de Lima. Agradecemos la ayuda económica de la Fundación Kellogg.

en el presente trabajo nos referiremos solamente a aquellos en los que hemos intervenido directa o indirectamente en su realización. El resultado de los datos hematológicos y bioquímicos ya fueron publicados (1) y en donde se indica también la procedencia de los diversos grupos, de modo que ahora nos referiremos a la riqueza en tiamina, riboflavina y niacina de las dietas consumidas por los citados grupos.

- a) El grupo de 100 soldados residentes en Lima sometidos al examen completo desde el punto de vista de la nutrición (3) consumía una ración idéntica y con pequeñas variaciones durante el año. El contenido de las vitaminas B era el siguiente: tiamina, 0,65 mgrs.; riboflavina, 1 mg., y niacina, 14 mg.
- b) Se hizo un esfuerzo para mejorar las condiciones nutritivas de la anterior ración y no se pudo conseguir este objetivo sino en parte. Así el grupo de 50 soldados estudiados en Huancayo (4) recibían en su ración: tiamina, 0,9 mg.; riboflavina, 1,5; niacina, 18 mg.
- c) El grupo de 50 soldados estudiados en la selva (5) poseían en su dieta diaria: tiamina, 0,8 mg.; riboflavina, 1,3, y niacina, 16 mg.
- d) Estudios realizados por Mendoza (6) en obreros de Chíncha demostraron que había los siguientes déficits en los alimentos que consumían los citados individuos: para la tiamina, 84%; para la riboflavina, 78%, y para la niacina, el 55%.
- e) Ortiz y Ponce (7), al estudiar las condiciones nutritivas de 50 hombres y 50 mujeres pobres de Lima, señalan que de la encuesta efectuada se deduce un alto porcentaje de déficit en las vitaminas del complejo B de las dietas que dichas personas consumían.
- f) Aguilar y Cáceres (8), en estudios realizados en 100 niños pobres de Lima, llegan a similares conclusiones.
- g) Los estudios efectuados por Abarca y Casaverde (9) en el Asilo de Ancianos de Lima, indican que la dieta de los 60 sujetos estudiados contenía: 0,55 mg.; riboflavina, 0,95 mg., y niacina, 7,5 mg.
- h) En un estudio del estado nutritivo efectuado en 80 universitarios de Lima, Perede y Paz (10) constatan que la dieta del Restaurante de Estudiantes contenía un

promedio por día: de tiamina, 1,65 mg.; riboflavina, 1,36 mg., y niacina, 18 mg.

- i) Díaz (11), en escolares de Cartavio, y Ortiz (12), en obreros de Arequipa, concluyen de un modo general que hay pobreza de las vitaminas en estudio en las dietas de dichos grupos.
- j) Sayán (13), en un estudio detallado del estado nutritivo de 60 alumnos del Colegio Militar Leoncio Prado, encuentra que la ración diaria posee: tiamina, 1,12 mg; riboflavina, 1,54 mg., y niacina, 52 mg.

Como se puede apreciar por lo que indicamos anteriormente, ninguna dieta de los diversos grupos humanos estudiados contenía las cantidades adecuadas de tiamina y riboflavina y que en la mayoría este déficit alcanza, aunque en menor grado, a la niacina. Sería prolongar mucho esta parte del trabajo si nos refiriéramos a otros estudios que no han sido realizados bajo nuestra dirección, pero que en su totalidad coinciden en que ninguna de las dietas sometidas a estudio muestra que las cantidades de las vitaminas B satisfacen los requerimientos recomendados.

### *Examen clínico*

En las diversas publicaciones referentes a la nutrición en el Perú y cuyo resumen también hemos dado a conocer (1) no hemos hecho referencia a este aspecto de nuestros estudios, debido a que dichos trabajos eran presentados a Congresos o reuniones de índole química, habiendo en todos los casos permanecido inéditas nuestras constataciones. Para efectuar este estudio se prepararon hojas especiales que para cada individuo eran llenadas por uno de los médicos que participaban en el equipo, de las que hemos efectuado un resumen de los datos en relación a los signos clínicos obtenidos por el interrogatorio o el examen de los individuos. Es cierto, por otra parte, que no existen signos patonómicos que revelen estados subclínicos; sin embargo, la frecuencia de éstos en un grupo numeroso adquiere importancia, sobre todo, si los datos obtenidos concuerdan con los de la encuesta alimenticia y los resultados de laboratorio.

- a) En el estudio de 100 soldados estudiados en Lima (3) el examen clínico reveló el siguiente porcentaje de sig-

nos dependientes a deficiencias: de tiamina, 20%; de riboflavina, 42%, y a la niacina, el 0%.

- b) En el estudio de los soldados en la sierra (Huancayo) (4) solamente se constató un 20% de signos de déficit de riboflavina. En una hacienda cercana a Huancayo (Layve) estudiamos 50 indígenas desde el punto de vista de la nutrición, y constatamos la ausencia de signos clínicos de estados de deficiencia a las vitaminas B. La ligera encuesta alimenticia efectuada reveló el consumo de cereales íntegros, queso (era hacienda ganadera) y otros alimentos que protegían a estos pobladores de sufrir dichos estados carenciales. Esto nos hace pensar en la posibilidad de que los soldados de Huancayo, que si bien es cierto consumían una ración algo pobre en tiamina y riboflavina, llegaban a filas con buenas reservas, aparte de que los días que salían consumían sus alimentos ricos en vitaminas del complejo B. Así nos explicaríamos el diferente porcentaje de signos de deficiencia entre los soldados de Lima y Huancayo.
- c) En las investigaciones efectuadas en la selva (Iquitos) el porcentaje de casos con signos de deficiencia es mayor. Así encontramos un 30% para la tiamina, 50% para la riboflavina. Es de advertir que es en esta región donde se han observado numerosos casos de beriberi y algunos de pelagra, sobre todo durante la guerra con Colombia (el año 1933). Esta situación, explicable en dicha época, dado el régimen alimenticio de las tropas internadas en la selva y la escasez de alimentos para la población civil, ha cambiado mucho. Con todo, la grave frecuencia de signos de deficiencia a la riboflavina persiste.
- d) En los estudios efectuados por Mendoza (6) en obreros de Chíncha no fué posible hallar signos clínicos de estados de deficiencia a las vitaminas en estudio.
- e) En los trabajos de Ortiz y Ponce (7) en personas adultas pobres de Lima se encontró un 26% de signos de deficiencia a la riboflavina en los hombres y 50% en las mujeres, porcentajes pequeños para la tiamina.

- f) En los niños pobres, Aguilar y Cáceres (8) hallan signos asociados a la carencia de tiamina en el 11,7%, y a la riboflavina, de 43%.
- g) Abarca y Casaverde (9), en ancianos, encuentran un 50% de signos claros de déficit a la riboflavina y porcentaje moderado a la tiamina.
- h) En los universitarios, Perede y Paz (10) señalan un 12% con signos de carencia a la riboflavina.
- i) En los escolares de Cartivio, Díaz (11) encuentra un 16,6% de niños con signos de déficit a la riboflavina.
- j) Ortiz (12), en los obreros de Arequipa, indica que el examen clínico revela un 4% de casos con déficit a la tiamina y 9% a la riboflavina.
- k) Sayán (13), en el Colegio Leoncio Prado, halla un 8,3% con signos de deficiencia a la riboflavina.

Como se puede deducir de lo anterior, en la casi totalidad de los grupos examinados está presente en una mayor o menor proporción de los signos de deficiencia a la riboflavina y en menor grado a la tiamina. Esta constatación guarda relación con los estudios del régimen alimenticio.

#### *Los datos de laboratorio*

En el presente trabajo nos referiremos a datos que pueden ser de utilidad en el diagnóstico de los estados de deficiencia a la tiamina, riboflavina y niacina en forma más detallada. Los demás exámenes químicos y hematológicos se encuentran ya publicados (referencia en (1)).

*Métodos.*—Existen algunos métodos de determinación de las vitaminas en la sangre, pero sobre cuyo valor diagnóstico hay dudas, por lo que preferimos hacerlo en la orina, de acuerdo al siguiente plan:

- 1) Las muestras de orina se recogían conforme a lo sugerido por Najjar (14), que consiste en permitir que el sujeto consuma su dieta ordinaria hasta la noche anterior. Luego de 12 horas de ayuno (de 9 de la noche a 9 de la mañana del día siguiente), el individuo en examen elimina orina. Se le administra un vaso de agua y una hora después se recoge toda la orina, se

mide la cantidad de excreción por hora, dato que se utilizará en los cálculos.

- 2) Las determinaciones de tiamina, riboflavina y el derivado metabólico de la niacina, la N<sub>1</sub>metilnicotinamida, se efectúa por el método fluorométrico perfeccionado por Johnson y colaboradores (15), con pequeñas modificaciones. Los resultados se expresan en contenido de la respectiva vitamina por hora, excepto para la niacina que se refiere al citado derivado metabólico.
- 3) Los sujetos que fueron sometidos a estas investigaciones están representados por tres grupos homogéneos. El primero, por 50 soldados residentes en Lima y que habían permanecido en el cuartel por un año, consumiendo una ración en cuya composición ingresaban: tiamina, 0,9 mg.; riboflavina, 1,5 mg., y niacina, 18 mg. El segundo grupo se compone de 50 soldados de la selva (Iquitos), quienes habían permanecido un año en el cuartel consumiendo una ración cuya riqueza vitamínica calculada era la siguiente: tiamina, 0,8 mg.; riboflavina, 1,3 mg., y niacina, 16 mg. La totalidad de estos individuos padecía de parasitismo intestinal (anquilostomas, tricocéfalos, ascaries lumbricoides, etc.). El tercer grupo representa a 50 ancianos del asilo que para éstos existe en Lima y cuyo régimen alimenticio contenía: tiamina, 0,55 mg.; riboflavina, 0,95 mg., y niacina, 7,5 mg. La edad de los sujetos de los grupos primero y segundo fluctuaba entre 19 y 22 años, y la del tercer grupo de 60 a 98 años. Como dato significativo debemos anotar que el régimen alimenticio para cada grupo era idéntico en su cantidad y calidad diariamente. Es natural decir que no hay seguridad, en especial para el tercer grupo, si llegaban a consumir todo lo que recibían.

### RESULTADOS OBTENIDOS

*Excreción de tiamina.*—En las condiciones en que se han efectuado las pruebas, en los casos de sujetos con saturación normal de tiamina, la excreción urinaria por hora es de 10 ó más gamas. De acuerdo con este dato, hemos agrupado nues-

tros resultados en grado de deficiencia: marcada, moderada, leve y normales. En el cuadro N° 1 se encuentran los resultados obtenidos en los tres grupos.

CUADRO N° 1  
EXCRECION URINARIA DE TIAMINA

Gammas×hora	Grado de deficiencia	F R E C U E N C I A		
		Lima	Selva	Ancianos
0 a 4	Marcada	26	50	78
4 a 8	Moderada	48	22	18
8 a 10	Leve	6	12	2
10 a 20	Normales	20	16	2

*Soldados de Lima.*—La cifra media de excreción de tiamina por hora es de 7,18 gammas. Se nota un 26% de deficiencia marcada (0 a 4 gammas); 48% de deficiencia moderada (4 a 8 gammas); 6% de déficit leve (8 a 10 gammas) y 20% de excreción dentro de lo normal.

*Soldados de la selva.*—La media de los 50 sujetos examinados da una excreción de tiamina por hora de 5,85 gammas. La distribución es la siguiente: déficit marcado, 50%; moderado, 22%; leve, 12%, y normales, 16%.

*Ancianos.*—El promedio de las 50 determinaciones es de 3,21 gammas por hora. Se observa un 78% con deficiencia marcada; 18% moderada, 2% leve y 2% normales.

#### *Excreción de riboflavina*

La cifra normal de excreción por hora de riboflavina es de 40 ó más gammas. Hemos agrupado como en el caso anterior en cuatro grupos los resultados obtenidos.

*Soldados de Lima.*—La cifra media de excreción en los 50 casos es de 34 gammas. La distribución es como sigue:

CUADRO N° 2  
EXCRECION URINARIA DE RIBOFLAVINA

Gammas×hora	Grado de deficiencia	F R E C U E N C I A		
		Lima	Selva	Ancianos
0 a 10	Marcada	2	36	56
10 a 20	Moderada	26	42	34
20 a 40	Leve	46	18	10
40 a 90	Normales	26	4	0

Deficiencia marcada (de 0 a 10 gamas), 2%; moderada (de 10 a 20 gamas), 26%; leve (de 20 a 40 gamas), 46%, y normales, 26%.

*Soldados de la selva.*—La media de los 50 sujetos examinados es de 17,4 gamas por hora. Se distribuyen como sigue: Deficiencia: marcada, 36%; moderada, 42%; leve, 18%, y normales, 4%.

*Ancianos.*—La cifra media de excreción en 50 sujetos es de 11 gamas de riboflavina por hora. Se reparte en la siguiente forma: deficiencia marcada, 56%; moderada, 34%; leve, 10%, y normales, 0%.

#### *Excreción de niacina*

De acuerdo con la técnica se determina en realidad un derivado metabólico de la niacina, que es la N<sub>1</sub>metilnicotinamida. En los sujetos normales hay una excreción por hora de 0,4 mg. ó más.

CUADRO N° 3

#### EXCRECION URINARIA DE METILNICOTINAMIDA

Gamas×hora	Grado de deficiencia	F R E C U E N C I A		
		Lima	Selva	Ancianos
0 a 0,2	Marcada	29	54	60
0,2 a 0,4	Leve	27	18	36
0,4 a 1	Normales	44	28	4

*Soldados de Lima.*—La cifra media para los 50 sujetos es de 0,41 mgr. La distribución es como sigue: deficiencia marcada (de 0 a 0,2 mgr. por hora), 29%; leve (de 0,2 a 0,4 mg.), 27%, y normales, 44%.

*Soldados de la selva.*—El promedio de las 50 determinaciones es de 0,32 mg.; se distribuye como sigue: deficiencia marcada, 54%; leve, 18%, y normales, 28%.

*Ancianos.*—La cifra media de los 50 individuos estudiados es de 0,18 mgr. La distribución es como sigue: déficit marcado, 60%; leve, 36%, y normales, 4%.

## DISCUSION

La interpretación de los resultados que hemos obtenido preferimos hacerla en forma separada, de acuerdo al plan que hemos trazado, es decir, nos referiremos en primer lugar al régimen alimenticio; luego, a los signos clínicos, y, por último, a los datos de laboratorio. Así tendremos oportunidad de discutir nuestros resultados y los de otros autores que se han ocupado de similares problemas.

El estudio del régimen alimenticio realizado en variados grupos humanos, de distinta condición social y económica, revelan pobreza de tiamina y riboflavina y en algunos grupos también de niacina. La mayoría de estas conclusiones han sido obtenidas calculando la riqueza en estas vitaminas de los alimentos consumidos; en algunos casos, como el de los soldados de Lima, se ha determinado cuantitativamente su contenido real. Es indudable que en encuestas de individuos que consumen los alimentos en sus domicilios sólo pueden calcularse con una aproximada exactitud, ya que no siempre la riqueza en vitaminas puede ser igual al señalado en las tablas nacionales que existen y menos en las presentadas por otros países. A pesar de estas objeciones reales, podemos asegurar que no hay la menor duda de que existen déficits y que se presentan con una regularidad notable.

Los estudios llevados a cabo por el Departamento de Nutrición del Ministerio de Salud Pública (16, 17) en relación a la dieta que consumen grupos humanos residentes en la costa, sierra y selva, demuestran que son pobres en tiamina y riboflavina y muy moderada o suficiente en niacina. Payva (18), al estudiar la ración actual del soldado peruano, indica que es deficiente en riboflavina y tiamina y correcta en lo que se refiere a la niacina.

La situación que atraviesa el Perú en la actualidad es la misma que se observó hace algunos años en otros países de mayores recursos económicos antes de que se llevara a cabo el enriquecimiento de las harinas con el complejo B. En efecto, estudios de Williams y colaboradores (19,20) demostraron que las cantidades de tiamina y riboflavina de las dietas de los americanos en dicha época eran deficientes. Por supuesto que la situación fué idéntica en Europa y se mantiene igual en

la mayoría de los países de Asia, Africa y algunos de América que no han procedido a añadir vitaminas a la harina o al arroz.

La interpretación de los signos clínicos para diagnosticar los estados carenciales no siempre es fácil. Es natural que en los casos avanzados no hay dificultad alguna, pero esto no es lo que se presenta al estudiar grupos humanos de personas aparentemente sanas, como es el caso de nuestro trabajo. Con todo, del recuento de los resultados obtenidos por nosotros hay un hecho indiscutible y es que la frecuencia de signos debidos de déficit alimenticio a la riboflavina es notable; en menor grado se presentan los relativos a la deficiencia de tiamina y escasa en lo tocante a la niacina; todo esto de acuerdo a la encuesta alimenticia que revela en la mayoría suficiente aporte de esta última vitamina. Hay, sin embargo, dos aspectos que necesitan un comentario especial. En primer lugar, la situación de los indígenas de Layve con ausencia de signos clínicos que revelen déficit aporte de las vitaminas en estudio, explicable por el consumo de cereales íntegros, leche y queso (ricos en riboflavina), ya que la citada hacienda era productora de estos alimentos. La situación especial de estos indígenas es similar a la que Anderson y sus colaboradores (21) observaron en los indios Otomi de Méjico, quienes estaban libres de estas deficiencias porque sus alimentos no industrializados les proporcionaban suficiente proporción de tales elementos nutritivos comparados con la mala situación nutritiva de los obreros en Nueva York. Debemos añadir que Schultz y colaboradores (22) han observado que el empleo de molinos de piedra en la preparación de harinas rinde un producto más rico en tiamina que el obtenido en plantas modernas. Y es sabido que en las pequeñas poblaciones de la sierra el anterior método persiste, aparte de que el grado de extracción es mucho menor, consumiéndose el pan integral por lo común.

El segundo caso es el relativo a los soldados de la selva y que posiblemente se pueda generalizar a los pobladores de dicha región. El examen clínico revela un alto porcentaje de estados de deficiencia, marcada a la riboflavina, moderada a la tiamina, lo que no está de acuerdo a la riqueza en dichas vitaminas de la ración de los soldados de Iquitos, que es similar a los de Lima. Para explicar estas diferencias habría

dos posibilidades: en primer lugar es factible que la riqueza en vitaminas del complejo B de los alimentos que se producen en la selva sea menor comparado al que se produce en la costa o en la sierra, y las tablas que han servido para los cálculos son con alimentos analizados en Lima. No puede negarse el papel que pueda jugar el parasitismo intestinal que atacara al 100% de los pobladores de la selva. En publicación anterior hemos presentado los datos hematopológicos de los soldados de Iquitos, con un alto porcentaje de anemias y otros trastornos bioquímicos (5). Por último, el factor clima es necesario tenerlo en cuenta, ya que es caluroso en la selva, y las pérdidas por el sudor para la riboflavina alcanzan en estas condiciones a 0,5 mg. al día (23); las pérdidas de tiamina son más pequeñas.

Es indudable que el problema de la nutrición en la selva necesita un estudio más detenido y en esto estamos de acuerdo con Mayer (24), quien sostiene que estos estudios en los países tropicales deben hacerse a fondo y que así se descubrirá que muchos procesos que se creían eran debidos a agentes microbianos se originarían por deficiencia nutritiva. Aparte de esto, Mills y colaboradores (25) han demostrado que las necesidades vitamínicas en estos climas están aumentadas.

En relación a la riboflavina ya en 1947 Kuczynski Godard (26) encontró en Guain (Ayacucho) una verdadera pandemia con signos típicos de déficit de riboflavina que alcanzaba al 36,2% y en otros lugares el 55% de los sujetos examinados.

Otro de los recursos que se emplean para el diagnóstico de los estados carenciales está representado por las pruebas de laboratorio. Si bien es cierto que en varios de dichos estados su valor es reconocido por todos los nutricionistas, no sucede lo mismo en lo que se refiere a las vitaminas, sobre todo en los estados subclínicos de deficiencia. Sin embargo, si en un caso individual los resultados no son concluyentes, en grupos de regular magnitud cobran importancia, es decir, si hay constante disminución de determinada vitamina en la sangre o en la orina y de acuerdo con el pobre aporte o predominio de signos clínicos, pueden los datos tener significación.

Los primeros estudios se realizaron en relación a la tiamina, desde que se señalaron métodos para su determinación en la orina, sean químicos o fluorométricos (27). Fueron Melnick y Field (28) quienes hicieron un estudio comparativo

de los métodos sugeridos, como son: 1) determinación de la tiamina en orina de 24 horas; 2) en muestra de las cuatro primeras horas de la mañana; 3) el de administrar por la vía oral 5 mg. de tiamina y medir el grado de excreción; 4) estudio de la eliminación después de una inyección de 350 gamas de dicha vitamina por metro cuadrado de superficie corporal y determinar la magnitud de excreción urinaria. Concluyen los autores que hay correlación entre los cuatro métodos, pero le dan preferencia al último. En oportunidad anterior, utilizando el segundo método, demostramos el alto grado de deficiencia en soldados de Lima (3), de acuerdo con el pobre aporte alimenticio en tiamina (0,65 mg.). Posteriormente, Najjar y colaboradores (29, 30) critican los métodos anteriores, ya que pueden ser influenciados por la dieta del día de la prueba (orina de 24 horas) o por factores de absorción (5 mg. vía oral) o insuficiencia renal (la administración parenteral). Por las razones indicadas sugieren la prueba de la determinación en una hora, que es el que hemos descrito en "Métodos". Cree el autor que así quedan eliminadas las objeciones ya indicadas; la falta o pobreza de excreción sería un índice de que el organismo carece de adecuada cantidad para saturar el organismo con determinada vitamina.

Robinson y colaboradores (31), empleando el anterior método, hallan una excreción media de 11 gamas de tiamina por hora en sujetos normales. En estudios que Salcedo y asociados (32) efectuaron en Batán (Filipinas) en sujetos "aparentemente sanos" encuentran un promedio de 6,1 gamas por hora; en los beribéricos, de 2,7. Para mejorar los resultados obtenidos en la medida de la prueba de tiamina en 24 horas se ha sugerido relacionarlo a la excreción urinaria de un gramo de creatinina (33). Se sostiene que la excreción normal por gramo de creatinina variaría de 80 a 276 gamas de tiamina y que en los casos de deficiencia las cifras serían menores de 100 (34). Aplicando el método anterior, Burch y colaboradores (35), en Filipinas, encuentran en individuos "sanos" 71,4 para 1 gr. de creatinina, pero creen que las cifras verdaderas tienen que ser de 100 a 300, si se tiene en cuenta que en dicho país, antes del enriquecimiento del arroz, todos los pobladores recibían un pobre aporte de dicha vitamina. En los beribéricos la media fué de 43,3 gamas de tiamina por gramo de creatinina.

La posibilidad de determinar tiamina o sus compuestos en la sangre ha sido sugerida por Bessey y sus asociados (36, 37). En la sangre total, en sujetos normales, la cantidad de tiamina variaría de 6 a 12 gamas por 100, la mayor parte contenida en los hematíes, ya que en el plasma habría sólo 1 gama por 100. Cantidades menores de 3 gamas por 100 en la sangre se observarían en los deficientes (38). Aplicando el método en Filipinas (34) se encontró que en sujetos "normales" la media era de 4%, en tanto que en los beribéricos 3,4%. Como se puede observar, las diferencias entre los dos grupos no es marcada. Dubé y colaboradores (39), con dieta adecuada en tiamina encuentran cifras de 3,5 a 5,4 gamas por 100 en la sangre, mientras que con deficiente aporte de tiamina en la dieta las cifras variaban de 2,8 a 4,6%.

De esta breve crítica de los métodos que se han sugerido creemos que en investigaciones de grupos compuestos de que ofrece mejores posibilidades. La determinación en la sangre, aparte de no establecer diferencias netas entre sanos y deficientes, presenta la dificultad en la técnica, ya que es más simple determinar en la orina que en la sangre.

En lo que respecta a la riboflavina, los estudios no son tan numerosos y en la mayoría de los casos los métodos sugeridos para aplicarlo al reconocimiento de los estados de desnutrición, por falta de esta vitamina, son similares a los que hemos comentado para la tiamina. La excreción urinaria guarda relación con el contenido de la dieta en riboflavina. Se ha demostrado (40, 41) que si la riqueza alimenticia es de 1,6 mg. hay una eliminación diaria de 400 gamas; si se reduce a 1,1 mg. la excreción urinaria baja a 112, y en los casos de pobre aporte en los que ya se pueden observar signos clínicos de deficiencia por riboflavina, la dieta tiene 0,55 mg. en la orina de 24 horas sólo se encuentran 50 gamas o menos. Otros investigadores (42( 43) han llegado a similares conclusiones. Si se relaciona a la creatinina excretada (44), en sujetos normales, se han encontrado 200 gamas de riboflavina por gramo de creatinina; en los deficientes, de 120. En lo que se refiere a la eliminación por hora, de acuerdo al método ya descrito, hay también estrecha correlación con el contenido en la dieta; se admite que una ingestión adecuada de riboflavina trae una eliminación de 40 gamas; si la dieta contiene 1,24 mg. de riboflavina, la excreción se reduce a 15; cuando el aporte vita-

mínico es de 1,01, la eliminación es de 12, y para dietas muy deficientes con 0,5 mg. el contenido de riboflavina es una hora de la orina baja a 8 gamas por 100 (45).

Burch y colaboradores (46) han presentado métodos para determinar la riboflavina y sus compuestos en la sangre. En el plasma sanguíneo la riboflavina total varía de 2,5 a 4 gamas por ciento, cuyas dos terceras partes están representadas por la flavina-adenina dinucleótido (F.A.D.); el resto, como mononucleótido o libre (47). Se sostiene (48) que la determinación de la riboflavina libre no presta ayuda para reconocer los estados de deficiencia; en cambio, tendría interés determinar la F.A.D. que en condiciones normales da una media de 2,32, cifra similar a la señalada por Burch y colaboradores (49) años antes. Bessey y sus asociados (50) creen que la determinación de la riboflavina total de los hematíes sería el método más recomendable; señalan para sujetos normales 22,3 gamas por ciento y en los deficientes de 11,7%.

De la revisión que acabamos de hacer es indudable que la determinación a la hora en la orina es más fácil de llevar a cabo, pero si se cuentan con facilidades técnicas sería de recomendar el último método de Bessey en los hematíes.

En lo que respecta a la niacina, Najjar y colaboradores (51, 52) demostraron que en los individuos con grave deficiencia a esta vitamina (pelagra) la excreción urinaria de una sustancia fluorescente en la orina estaba ausente (llamada compuesto F). Posteriormente, dicha sustancia fué identificada por Huff y Perlweing (53), quienes demostraron que se trataba de N<sub>1</sub>metilnicotinamida, un derivado de la niacina, cuya metilación se efectúa en el hígado. Utilizando niacina con acrbono marcado se confirmó la anterior tesis, pues el 48% de la niacina administrada lograba recuperarse como el compuesto metilado en la orina (54). Se sostiene que al día los sujetos normales logran excretar en la orina 12,5 mg. de la referida sustancia (55); si la dieta es pobre en niacina, la cantidad excretada se reduce (56). Posteriores estudios han demostrado que hay otro producto que se excreta en la orina luego de la administración de niacina; es la N<sub>1</sub>metil 6 piridona 3 carboxilamida, que en realidad es un producto de oxidación de la N<sub>1</sub>metilnicotinamida, fenómeno que se efectúa en el hígado (57, 58, 59).

Existen métodos para determinar el último compuesto descubierto (60).

Creemos que es conveniente aclarar estas transformaciones metabólicas. La niacina que llega con los alimentos sufre en primer lugar en el organismo la aminación para rendir niacinamida, luego su metilación, para dar N<sub>1</sub>metilnicotinamida, sustancia fluorescente que se excreta por la orina. Aproximadamente el 50% de la sustancia anterior puede sufrir su oxidación a N<sub>1</sub>metil 6 piridona 3 carboxilamida, que también se excreta en la orina. Todos estos procesos metabólicos se efectúan en el hígado:

La determinación de la niacina o sus coenzimas I y II tienen importancia para el diagnóstico de los procesos carenciales en dicha vitamina (61). Es interesante observar que no son numerosos los estudios sobre la excreción de niacina o derivados como medio diagnóstico; esto se debe a que los primeros trabajos se dedicaron a determinar niacina en la orina y sabemos que como tal se excreta en pequeñas cantidades. Cuando se demostró que el compuesto fluorescente, la N<sub>1</sub>metilnicotinamida y posteriormente su derivado, la piridona, eran, en realidad, las sustancias que pudieran disminuir en los estados de pobre aporte vitamínico, sucede que el número de casos de pelagra ha disminuído en forma asombrosa en el mundo, debido a diversos factores, en especial correcciones de regímenes alimenticios y a que un ácido aminado, el triptófano, en el curso de su metabolismo era capaz de rendir niacina. La técnica para determinar la piridona sólo fué descrita hace pocos años y no hay estudios que demuestren la importancia de su determinación en la orina de los casos de deficiencia a la niacina.

Si ahora comentamos nuestros resultados, diremos que, aceptando la excreción normal de tiamina por hora en la muestra de orina de 10 gamas o más, se nota en primer lugar una marcada diferencia en los resultados obtenidos en los tres grupos, en parte de acuerdo a la riqueza en dicha vitamina de la dieta en cada grupo. Para referirnos específicamente a las deficiencias marcadas de excreción en los soldados de Lima, el porcentaje es de 26; en los de la selva, 50, y en los ancianos, 78. Los que presentan eliminación normal guardan similar pero inverso paralelismo. Anteriormente hemos insistido sobre el hecho de que, desde el punto de vista de la apa-

rente riqueza en vitaminas del complejo B en las relaciones de los soldados de Lima y la selva, no habría razón para hallar clínicamente y por las pruebas de laboratorio mayor número de casos de esta deficiencia en la selva. Recordemos que la cantidad de tiamina para los soldados de Lima es de 0,9 mg. y los de la selva 0,8. Hemos indicado también las posibles explicaciones que pueden darse para aclarar esta situación. En lo que respecta a los ancianos hay perfecta correlación, alto porcentaje de deficiencia de excreción marcada y aporte de tiamina en la dieta de 0,55 mg. al día.

Con relación a la riboflavina notamos que las deficiencias marcadas, juzgadas por la excreción urinaria, para los soldados de Lima es de 2%, mientras que para la selva es de 36%. En este caso las discrepancias en relación al aparente contenido de la dieta en esta vitamina son más pronunciadas. En efecto, la ración en Lima contiene 1,5 mg. de riboflavina, la que consumían los soldados de Iquitos de 1,3 mg. Lo que sí debemos anotar es que los datos clínicos guardan más relación con los de laboratorio. El alto porcentaje (56%) de deficiencias marcadas, juzgadas por la excreción de riboflavina, en los ancianos guarda estrecha relación con el pobre contenido en esta vitamina de la dieta de dichos sujetos.

Al comentar nuestros resultados de laboratorio en relación a la niacina debemos aclarar que sólo hemos determinado uno de los derivados metabólicos, la N<sub>1</sub>metilnicotinamida. En condiciones normales se admite que en una hora se excretarían 0,4 mg. Los datos que se han obtenido en Lima revelan un 29% de marcada deficiencia y 54% en la selva. Sin embargo, el contenido en niacina de ambas dietas está dentro de las cifras recomendadas como adecuadas. Para el caso de los ancianos, el alto porcentaje de déficit marcado, juzgado por el estudio de la orina, halla su explicación por el pobre contenido en niacina de la dieta consumida por dichos individuos (mg. 7,5). Es innegable que se necesita estudiar con más detalle la razón de las discrepancias anteriores; tal vez sí convendría determinar conjuntamente los dos derivados de la niacina, porque son muchos los factores metabólicos tisulares que pueden intervenir para la formación de uno u otro compuesto. Es de suponer que algunos de estos factores sean extraños al propio proceso de deficiencia, debido a que estados de insuficiencia hepática, disminución de dadores del

radical metilo, etc., pueden intervenir para que los derivados metabólicos no se encuentren en la orina o lo estén en poca cantidad.

Lo que sí es seguro es que donde se ha realizado encuesta alimenticia se han hecho estudios clínicos para reconocer estados carenciales a vitaminas del complejo B (nos referimos en particular a la tiamina y riboflavina) y por último en investigaciones de laboratorio en sujetos aparentemente sanos se ha descubierto que en un alto porcentaje presentan signos de pobre aporte vitamínico, buen porcentaje de signos clínicos y datos de laboratorio que confirman la existencia de tales condiciones sin lugar a dudas en toda la población, aunque no en el mismo grado de severidad. Todos los que se han ocupado de estos problemas están de acuerdo con esta conclusión.

Si ésta es la realidad nacional, es lógico que también insistamos en la urgente necesidad que hay de corregir esta situación, que afecta a millones de habitantes del país. Felizmente, las medidas capaces de solucionar a corto plazo las deficiencias anotadas están al alcance de cualquier región poblada, aun cuando no cuente con grandes recursos económicos. La posibilidad de buscar en los alimentos de consumo nacional algunos que pudieran contener mayor proporción de vitaminas no ha dado resultados. En un estudio que hicimos con Payva (62) sobre el contenido de tiamina de productos de gran consumo entre nosotros se demostró que la solución no radicaba en esa búsqueda. No quedaba más que seguir el ejemplo de la mayoría de los países, esto es, enriquecer con vitaminas sintéticas la harina o el arroz. Las experiencias en grande escala efectuadas en Estados Unidos de Norteamérica y Europa, y más particularmente las cuidadosas observaciones efectuadas en Terranova y Filipinas, merecen citarse como ejemplos. En efecto, en Terranova (63), antes del enriquecimiento de la harina, se constataba un regular porcentaje de sujetos con signos de deficiencia a la tiamina y riboflavina; el estudio de la excreción urinaria dió para la tiamina 96 gamas en la orina por gramo de creatinina y para la riboflavin de 513. Luego que se fortificó la harina, estas cantidades subieron a 273 para la tiamina y 631 para la riboflavina. A la vez se observó la mejoría de los signos clínicos. En Filipinas (32, 34, 64) estudios similares demostraron en forma más espectacular el

beneficio del enriquecimiento del arroz. La incidencia de casos típicos de beri-beri bajó de 12,74% a 1,55% en Batán, que fué la provincia seleccionada para estas investigaciones. La mortalidad por beri-beri, de 254 por 100.000 habitantes, descendió a 80. La excreción de tiamina por gramo de creatinina, de 65 gamas subió a 253. Estas experiencias en grande escala han contribuido eficazmente a que el programa de enriquecimiento del arroz y la harina se vayan generalizando en todas partes del mundo.

Con relación a las cantidades de vitaminas que hay que añadir al arroz o a la harina de trigo, depende de la magnitud de correcciones que de las dietas hay que efectuar. Si se admiten las recomendaciones del Consejo de Investigaciones para Nutrición de los Estados Unidos de Norteamérica (65), para el adulto, las cantidades de tiamina serían 1,5 mg.; de riboflavina, 1,8 mg.; de niacina, 15 mg. al día. Estas son cifras netas, o sea que del contenido de los alimentos frescos hay que hacer el descuento por pérdidas durante la cocción, almacenamiento, etc. En un trabajo anterior (1) nosotros hemos sugerido las siguientes cantidades por kilo de arroz o harina: tiamina, 4 mb.; riboflavina, 4, y niacina, 30. En estas condiciones, por individuo y suponiendo un consumo diario de 200 gramos de harina (pan, fideos, dulces, etc.) o arroz, lograrían recibir de tiamina o riboflavina 0,8 mg.; de niacina, 6 mg. Si aceptamos que el promedio de las dietas estudiadas tiene un contenido de tiamina de 0,8 mg., de riboflavina 1 mg. y de niacina 10 mg., creemos que la fortificación propuesta lograría corregir en forma adecuada las deficiencias anotadas. Nuestra sugerencia difiere ligeramente de las cantiaddes usadas en Estados Unidos de Norteamérica; en efecto, en dicho país para la tiamina es de 4 mg. por kilo de harina; riboflavina, 2,5, y niacina, 36. En el caso del arroz, en Filipinas se emplea por kilo de dicho cereal: tiamina, 4 mg.; niacina, 32; no se utilizó riboflavina porque cambia el color del producto y así podría sufrir rechazo de los consumidores. En la actualidad, los procedimientos de enriquecimiento han mejorado y, por otra parte, si todo el arroz es fortificado no habría posibilidad de que fuera rechazado. Como se puede observar, nosotros sugerimos: a) una mayor cantidad de riboflavina porque el consumo de productos ricos en esta sustancia es pequeña en el país (leche y sus derivados) y porque se ha constatado un

alto porcentaje de estados de subcarencia debidos a pobre aporte alimenticio en dicha vitamina. La cantidad de niacina la hemos reducido porque la mayoría de las dietas estudiadas constan del 70 a 80% de las proporciones recomendadas.

Los molinos de las grandes ciudades del país están deseosos de participar en este programa de enriquecimiento; algunos lo hacen para ciertas instituciones estatales o privadas. Otro aspecto interesante es el bajo precio de las vitaminas sintéticas en la actualidad. Según cálculos que hemos efectuado, la fortificación de acuerdo a nuestro plan estaría en moneda peruana 2,2 centavos por kilo de harina o arroz y por persona (que consume 200 gramos de harina o arroz) de 0,44 centavos, que aumentando por costos de instalación podríamos llegar a 1 centavo. La legislación que haga obligatorio el uso de vitaminas del complejo B tiene que contemplar la forma de compensar el gasto por parte de los molinos. Una simple solución sería autorizar la disminución del peso del pan en proporción al precio de las vitaminas que se añadan. En esta forma el público, sin protesta, lograría beneficiarse en forma apreciable. Hay razón para que muchos nutricionistas consideren el enriquecimiento de harinas o cereales "como el seguro de salud para millones de habitantes". Para solucionar el problema en las poblaciones de la selva la medida es más simple. En dicha región toda la harina es importada del extranjero, de modo que bastaría decretar que el citado producto venga ya fortificado.

Una vez más hemos querido insistir sobre la urgencia que hay por parte del Gobierno de proceder a tomar las medidas legales que solucionen en forma definitiva la carencia de vitaminas B de los alimentos que consume la casi totalidad de los habitantes del Perú, como lo ha hecho la mayoría de los países civilizados, incluyendo varios de Sud-América.

## SUMARIO

En este trabajo presentamos el resultado de las investigaciones realizadas con el fin de descubrir los estados de deficiencia a las vitaminas del complejo B en diversos grupos humanos y en distintas regiones del Perú. Los datos clínicos y la encuesta alimenticia, así como la determinación de tia-

mina, riboflavina y niacina (esta última en tres grupos homogéneos), revelan un buen porcentaje de estados de deficiencias, sobre todo a la riboflavina y tiamina, de acuerdo con el pobre aporte que en dichas vitaminas llevan las dietas. Debido a que esta grave deficiencia nutritiva afecta a millones de pobladores, se sugiere, como medida más recomendable, la fortificación de las harinas de trigo o de arroz con adecuadas cantidades de las citadas vitaminas. Es de advertir que el costo es insignificante y que los resultados obtenidos en otros países han dado excelentes resultados. En el caso de lugares de la selva (Iquitos) que importan harina de trigo ya preparada, bastaría ordenar que se importe dicho producto ya fortificado.

Agradecemos la colaboración en parte de los trabajos de laboratorio al Dr. José Mejía Chávez.

### SUMMARY

We present the results of our investigation of vitamin B-complex deficiency in humans who inhabit diverse topographic regions of Perú. The clinical data and the study of the food consumption in three homogeneous groups revealed an alarming deficiency in thiamin, riboflavin and niacin due to poor diets. The deficiency of riboflavin and thiamin were more common.

It is suggested that basic and more popular foods such as rice and bread be fortified by addition of adequate amounts of these vitamins to rice and wheat flour as has been successfully done in other countries. The vitamin replacement should not be costly. In jungle areas where flour is imported it would be simple enough to order the fortified flour.

It is estimated that millions of human beings suffer from vitamin B-complex deficiencies in Perú.

We wish to acknowledge the cooperation of Dr. José Mejía Chávez in part of the Laboratory procedure.

### ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurden klinische Untersuchungen über Vitaminmangel angestellt sowie die Exkretion von

Thiamin, Riboflavin und N-Methylnikotinamid im Urin in Gruppen von je 50 Soldaten in Lima, Iquitos (Urwaldgegend) und 50 Insassen eines Altersasyls in Lima bestimmt. Die Diät dieser Personen war uniform und ihr Vitamingehalt bekannt. In allen 3 Gruppen wurden Mangelsymptome sowie anormal niedrige Urinwerte für die 3 untersuchten Vitamine gefunden, häufiger für Thiamin und Riboflavin als für Niazin. Als Preventivmassnahme zur Verhütung der Vitaminmangelercheinungen wird die Anreicherung des Mehles und des Reises mit den Vitaminen des B-Komplexes empfohlen.

#### BIBLIOGRAFIA

- (1) Guzmán Barrón A.—Arch. Venezolanos de Nutrición, 5, 263 (1954).
- (2) Guzmán Barrón A.—Plan general para estudios de Nutrición. Actas del III Congreso Peruano de Química (1943). Tomo II, pág. 262.
- (3) Guzmán Barrón A., Angulo Bär J., Payva C., Donayre R.—Estudios de Nutrición en el Perú. Rev. Sanidad Militar del Perú, 18, 7 (1945).
- (4) Guzmán Barrón A., Angulo Bär J., Carpio G., San Martín M., Donayre R.—Estudios de Nutrición en la Sierra. Rev. de la Sanidad Militar, 20, 33 (1947).
- (5) Guzmán Barrón A., Mejía Chávez J., Salomón P., Bocanegra M.—Estudios de Nutrición en la Selva. Actas y trabajos del III Congreso Peruano de Química. Vol. I, pág. 296 (1949).
- (6) Mendoza C.—Encuesta de Nutrición en Chincha. IV Congreso Sudamericano de Química, pág. 78 (1948).
- (7) Ponce L., Ortiz H.—Estudios de Nutrición en adultos pobres de Lima. An. Fac. Med. 37, 182 (1954).
- (8) Aguilar T., Cáceres R.—Estudios de Nutrición en niños pobres de Lima. An. Fac. Med. 37, 203 (1954).
- (9) Abarca F., Casaverde M.—Estudios de Nutrición en ancianos de un asilo. An. Fac. Med. 37, 243 (1954).
- (10) Pereda S., Paz I.—Estudios de Nutrición en universitarios. Boletín Servicios Médicos. U.N.M.S.M. Año VIII, N° 15 (1954).
- (11) Díaz J.—Estudios de Nutrición en escolares de Cartavio. Tesis. Lima (1955).
- (12) Ortiz M.—Estudio de Nutrición en obreros de Arequipa. Tesis. Lima (1955).
- (13) Sayán H. V.—Estudio de la nutrición del escolar limeño. Tesis. Lima (1956).
- (14) Najjar V. A.—J. Clin. Invest. 21, 639 (1942).
- (15) Johnson R. E., Sargent F., Robinson P., Consolazio C.—Ind. and Eng. Chemistry. Anal. Edit. 17, 384 (1945).
- (16) Collazos C., White H., Rehs E., Hueneman R., White P.—J. Am. Diet. Asoc. 29, 883 (1953).
- (17) Collazos C. y colaboradores.—La familia peruana, pág. 134 (1954).

- (18) Payva C.—Rev. San. Militar, 29, 1 (1956).
- (19) Lane R., Johnson E., Williams R. R.—J. Nutr. 22, 613 (1942).
- (20) Williams P. R., Mason A. L., Wilder R. L.—J. Am. Med. Asoc. 121, 943 (1943).
- (21) Anderson P. R., Calvo J., Serrano G., Payrre G. C.—Am. Jour. Publi. Health, 36, 883 (1946).
- (22) Schultz A. S., Atkin L., Frey C. N.—Cereal Chemistry, 19, 528 (1942).
- (23) Tennes D. M., Silber R. H.—J. Biol. Chem. 148, 359 (1943).
- (24) Mayer J.—Nutr. Review, 9, 225 (1951).
- (25) Millz C. A., Cottingham, Taylor E.—Am. Jour. Physiol. 149, 376 (1947).
- (26) Kuczynski Godard M.—La vida bifronte de los campesinos ayacuchanos (1947).
- (27) Hennesey D. J., Cerecedo L. A.—J. Am. Chem. Soc. 61, 179 (1939).
- (28) Melnick D., Field H.—J. Nutr. 24, 134 (1942).
- (29) Najjar, V.—J. Clin. Investig. 21, 639 (1944).
- (30) Najjar V., Stein H. J., Holt L. E., Kabler C. V.—J. Clin. Investig. 21 263 (1942).
- (31) Robinson P. F., Consolazio F. C.—J. Nutr. 30, 89 (1945).
- (32) Salcedo J., Carrasco E. O., José F. R., Valenzuela R. C.—J. Nutr. 36, 561 (1948).
- (33) Adamson J. D., Jolliffe A. D., Kruse O., Lowry y colab.—Can. Med. Asoc. J. 52, 227 (1945).
- (34) Louhi H. A., Yu H. Hanthorne B., Storwik C.—J. Nutr. 48, 297 (1949).
- (35) Burch H. B. y colab.—J. Nutr. 42, 9 (1950).
- (36) Bessey O. A., Lowry O. H.—Am. J. Publ. Health, 35, 941 (1945).
- (37) Lowry O. H., Bessey O. A.—Fed. Proc. 4, 268 (1945).
- (38) Cantarrow A., Trumper M.—Clinical Biochemistry, pág. 457. W. Saunder 1955.
- (39) Dube R., Johnson E. C., In H., Storwik C.—J. Nutr. 49, 307 (1952).
- (40) Horwitz M. K. y colab.—J. Nutr. 39, 357 (1949).
- (41) Horwitz C., Harvey O., Hill L.—J. Nutr. 41, 247 (1950).
- (42) Calvo J. y colab.—J. Am. Diet. Asoc. 22, 297 (1946).
- (43) Calvo y colab.—J. Am. Diet. Asoc. 28, 1126 (1948).
- (44) Burch H., Salcedo J., Carrasco E., Intengan C.—J. Nutr. 46, 239 (1952).
- (45) Davis M. V., Oldham H. G., Roberts L. J.—J. Nutr. 32, 143 (1946).
- (46) Burch H. B., Bessey O. A., Lowry O. H.—J. Biol. Chem. 175, 457 (1948).
- (47) Cantarrow A., Trumper M.—Clinical Biochemistry, pág. 459. — W. Saunder 1950.
- (48) Seivarnaki K., Mann G., Stare F.—J. Nutr. 47, 105 (1952).
- (49) Burch B., Bessey O. A., Lowry O. H.—J. Biol. Chem. 175, 457 (1948).
- (50) Bessey O., Horwitz M., Love R.—J. Nutr. 58, 367 (1956).
- (51) Najjar V. A., Wood R. W.—Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 44, 386 (1940).
- (52) Najjar V. A., Holt L. E.—Science 93, 20 (1941).

- (53) Huff J., Perlzweig W. A.—*J. Biol. Chem.* 150, 395 (1943).
- (54) Hundley J. M., Bond H. W.—*J. Biol. Chem.* 173, 513 (1948).
- (55) Cantarrow A., Trumper M.—*Clinical Biochemistry*, pág. 460. — W. Saunder 1955.
- (56) Goldsmith G. A., Sarett H. P., Register U. D., Giblens J.—*J. Clin. Invest.* 31, 533 (1952).
- (57) Knox W. E., Grossman W. Y.—*J. Biol. Chem.* 166, 391 (1946).
- (58) Knox W. E., Grossman W. Y.—*J. Biol. Chem.* 168, 363 (1947).
- (59) Perlzwaig W. A., Rosen F., Pearson P. B.—*J. Nutr.* 40, 453 (1950).
- (60) Price J. M.—*J. Biol. Chem.* 211, 117 (1954).
- (61) Elvehjem C. A., Tepley L. J.—*Chem. Review* 33, 185 (1943).
- (62) Guzmán Barrón A., Payva C.—*Bol. Soc. Química del Perú*, 10, 1 (1944).
- (63) Aykroid W. R. y colab.—*Can. Med. Asoc. J.* 60, 329 (1949).
- (64) Salcedo J. y colab.—*J. Nutr.* 42, 501 (1950).
- (65) Food and Nutrition Board, National Research Council, Washington D. C. (1948).