

## **Mezclas de proteínas vegetales para consumo humano**

### **IX. Evaluación del valor nutritivo de las proteínas de la mezcla vegetal INCAP 9 en diversos animales de experimentación.<sup>1</sup>**

R. BRESSANI<sup>2</sup>, J. E. BRAHAM<sup>3</sup>, R. JARQUÍN<sup>4</sup> Y L. G. ELÍAS<sup>4</sup>  
Instituto de Nutrición de Centro-América y Panamá (INCAP), Guatemala, C.-A.

En el desarrollo de mezclas de proteínas vegetales destinadas al consumo humano es esencial llevar a cabo cuidadosos y amplios trabajos de experimentación animal con el propósito de estudiar su valor nutritivo, deficiencias nutricionales de importancia y posibles efectos adversos que éstas puedan tener en la salud de los animales. En artículos anteriores relacionados con este tema, se ha informado sobre el desarrollo y composición química de la Mezcla Vegetal INCAP 9 (5) y se ha dado cuenta de las pruebas biológicas llevadas a cabo con esta mezcla en polluelos (3) y ratas (6), así como de los resultados obtenidos al administrarla a niños (11). La fórmula básica de este producto tiene, en porcentajes, la siguiente composición: masa de maíz, 28; harina de semilla de algodón, 38; maicillo (*Sorghum vulgare*) molido, 28; levadura torula, 3,

<sup>1</sup> Este trabajo fue realizado con la ayuda económica del National Research Council (E.E.UU.) (Subvención RF-NRC-1) y de National Institutes of Health (E.E.UU.) (Subvención A-981).

<sup>2</sup> Jefe de la División de Química Agrícola y de Alimentos del Instituto de Nutrición de Centro-América y Panamá (INCAP).

<sup>3</sup> Asistente al Jefe de la División de Química Agrícola y de Alimentos, INCAP.

<sup>4</sup> Científicos de la misma División.

Publicación INCAP E-264.

y harina de kikuyu (*Pennisetum clandestinum*) deshidratado, 3 (5). Los estudios biológicos en polluelos y ratas (3, 6) demostraron también que es posible substituir por varios cereales el maíz y maicillo que ésta contiene, sin que su valor nutricional cambie necesariamente. En las pruebas realizadas con pollos y ratas (3) se pudo determinar que la levadura torula mejoraba significativamente el valor proteico de la mezcla, mientras que esto no sucedía con la harina de kikuyu deshidratado o con otras harinas de hojas deshidratadas empleadas como fuente de provitamina A.

En el presente artículo se dan a conocer los valores de su utilización proteica neta ("net protein utilization" = NPU) en polluelos, así como las determinaciones de su valor biológico en perros en proceso de crecimiento. Se incluyen, además, algunos datos resultantes de los estudios metabólicos de balance de nitrógeno efectuados en perros pequeños y en cerdos.

## METODOS Y RESULTADOS

### *Utilizacion Proteica Neta (NPU) en polluelos*

En esta investigación se usaron polluelos de diez días, de la raza New Hampshire, que se alimentaron con un concentrado comercial que contenía 20% de proteína. Estos fueron distribuidos en 8 grupos experimentales de diez animales cada uno, y los grupos así formados se dividieron a la vez en dos subgrupos. A uno de ellos se le proporcionó, *ad libitum*, Mezcla Vegetal INCAP 9B (4) que contenía 10% de proteína, por un período de 10 días, al término del cual todas las aves fueron sacrificadas, pesadas y disecadas parcialmente para facilitar que se secaran a 100°C. a un peso constante. El otro subgrupo se alimentó también *ad libitum* con una dieta que contenía 5% de proteína de harina de huevo entero desgrasado, para obtener el nivel de nitrógeno básico del carcás. Para calcular el contenido de nitrógeno del carcás de los animales, con base en su contenido de agua, se utilizó la ecuación de regresión de Braham<sup>1</sup> y colaboradores (2) de la relación entre el nitrógeno y el agua, usando polluelos New Hampshire que se alimentaron con una ración corriente de laboratorio. Los valores de NPU se calcularon de acuerdo con la ecuación de Bender y

<sup>1</sup>  $Y = 0.0358 + 0.000275X$  da el N/H<sub>2</sub>O relación en términos de edad (X).

Miller<sup>2</sup> (1). En el Cuadro N<sup>o</sup> 1 se presentan los valores correspondientes a todos los polluelos que, según se observa, oscilaron desde 50.2 hasta 65.8, con un promedio de 56,5%.

#### *Estudios de Balance de Nitrógeno en perros pequeños*

En este experimento se utilizaron cuatro perros jóvenes de tres meses de edad, los cuales fueron alimentados con la Mezcla Vegetal INCAP 9 (Dieta 1, Cuadro N<sup>o</sup> 2). La dieta, cuya composición se da a conocer en el Cuadro N<sup>o</sup> 2, se administró a cada animal durante seis períodos de 4 días cada uno, con dos días de intermedio, para fines de adaptación. Los perros alimentados con la Mezcla Vegetal INCAP 9 recibieron de 1.97 a 1.08 g. de nitrógeno/kg./día. Para determinar el contenido de nitrógeno total de las dietas, heces y orina, éstas fueron analizadas por medio del método de Kjeldahl. El Cuadro N<sup>o</sup> 3 muestra que el promedio de retención de nitrógeno en el caso de todos los perros alimentados con la Mezcla Vegetal 9, expresada como porcentaje de ingesta de nitrógeno, fue de 28,1% y, al expresarlo como la base del nitrógeno absorbido, de 36,7%. No se observó ningún efecto adverso durante los 34 días del experimento, y en ese período se proporcionó a los animales bajo estudio cantidades elevadas de esta Mezcla.

#### *Indice de Balance de Nitrógeno en perros*

Se alojaron individualmente en jaulas de metabolismo tres perros hembras de tres meses de edad, y después de un período de 10 días de adaptación, se les alimentó con la Mezcla Vegetal INCAP 9 (Cuadro N<sup>o</sup> 2, Dieta 1), a niveles decrecientes de proteína. Se mantuvo una ingesta calórica constante de aproximadamente 130 calorías/kg./día, suministrándoles la proporción necesaria de una dieta libre de nitrógeno. (Véase Cuadro N<sup>o</sup> 2, Dieta 3.) La mezcla se preparó con 200 ml. de agua hirviendo y se les dio alimento dos veces diarias: a las 8 a. m. y a las 3:30 p. m. Cada una de las concentraciones de proteína puestas a prueba les fue suministrada por un período de 12 días y durante los últimos 8 días los animales se sometieron a dos períodos de balance de nitrógeno de 4 días cada uno.

---

N del Cuerpo del grupo bajo prueba — N del Cuerpo del grupo  
alimentado con 5% de proteína de huevo + N consumido por  
el grupo alimentado con 5% de proteína de huevo

<sup>2</sup> NPU =

---

N consumido por el grupo bajo prueba

Como controles se usaron nueve perros hembras de dos meses de edad que se dividieron en tres grupos de tres animales cada uno, alimentándose con una dieta a base de caseína (véase Cuadro N° 2, Dieta 2). A cada grupo se le administró una concentración proteica diferente, a razón de 3.5, 6.5 y 8.5 g./kg./día, y una ingesta calórica adaptada a aproximadamente 130 calorías/kg./día en el caso de todos los grupos. Esto se logró calculando las cantidades totales de calorías de la Dieta 3 y ajustando la dieta libre de nitrógeno (Dieta 3) a 130 calorías/kg./día. Cada concentrado proteico se suministró durante un período de 12 días, para obtener tres balances de cuatro días cada uno, en cada grupo. El contenido de nitrógeno de las dietas, heces y orina se determinó por el método de Kjeldahl. La figura 1 muestra la relación existente entre la ingesta y la retención de nitrógeno, así como la relación entre el nitrógeno ingerido y el nitrógeno absorbido de los perros alimentados con la Mezcla Vegetal INCAP 9 a diferentes concentraciones proteicas; en la figura 2 se indica esta misma relación en perros alimentados con caseína. En el caso de los animales que consumieron la Mezcla Vegetal 9, la ecuación de regresión entre el nitrógeno ingerido y el nitrógeno retenido fue como sigue:  $Y = -0.1333 + 0.4106 X$ , y en los animales alimentados con caseína:  $Y = -0.1560 + 0.5691 X$ .

#### *Determinaciones del Valor Biológico de la Mezcla Vegetal en perros*

Estos estudios se llevaron a cabo valiéndose del método de Thomas-Mitchell (10), y para el caso se usaron cinco perros en proceso de crecimiento (2 machos y 3 hembras) que se alimentaron con las dietas descritas en el Cuadro N° 2 por un período de 8 días. A los dos perros machos se les suministró la Mezcla Vegetal INCAP 9 (Dieta 1), la dieta libre de nitrógeno (Dieta 3) y la de caseína (Dieta 2), en este mismo orden. Las tres hembras recibieron las mismas dietas, salvo que primero se les administró la de caseína, luego la dieta libre de nitrógeno y por último la Mezcla Vegetal 9. La dieta libre de nitrógeno se proporcionó a los animales para obtener datos del nitrógeno metabólico fecal y del nitrógeno metabólico endógeno. En el Cuadro N° 2 se describen las tres dietas que se usaron en estos experimentos. La ingesta proteica se adaptó a 4.0 g./kg./día a una ingesta calórica diaria de 190 calo-

rías/kg., y durante los últimos cuatro días se midió la comida a ingerir y se recolectaron heces y orina. Como se indica en el Cuadro N° 4, el valor biológico de la Mezcla Vegetal promedió 71.2%, mientras que en el caso de la caseína éste fue de 77.5%:

$$V. B. = \frac{\text{Ingesta de nitrógeno} - (\text{Nitrógeno fecal} - \text{Nitrógeno metabólico})}{\text{Nitrógeno ingerido} - (\text{Nitrógeno fecal} - \text{Nitrógeno metabólico})}$$

### Estudios de Balance de Nitrógeno en cerdos

Tres cerdos (cruce de New Hampshire hembras × Durox-Jersey machos), de diez semanas de edad, se alojaron individualmente en jaulas de metabolismo. Como primera medida, antes de que entraran a formar parte del experimento, una semana antes se les administró un vermífugo para erradicar los parásitos. Luego se les suministró la Mezcla Vegetal INCAP 9 cocida; esto se llevó a cabo mediante el cocimiento de una parte de la mezcla en diez partes de agua. Después de 15 a 20 minutos de cocción se le agregaron los siguientes ingredientes: 3% de mezcla de sales minerales "Salmina" (5), 94.4% de maíz molido; 0.2% de Aurofac, y 2.4% de Rovimix<sup>3</sup>. Esta dieta, que aportaba por lo menos 8 g. de proteína/kg./día, se les administró dos veces diarias. Al principio se registró el consumo de alimentos; se recolectaron también heces y orina durante cuatro días para estudios de balance nitrogenado que se llevaron a cabo cada 7 u 8 días hasta ajustar un total de 56 días. Luego se obtuvieron otros dos balances: uno después de 15 días y el otro después de 30 días. La ingesta alimentaria y el aumento de peso se registraron semanalmente. Puesto que la comida se suministró *ad libitum*, la ingesta proteica varió durante el período experimental. Como lo muestra el Cuadro N° 5, la absorción de nitrógeno osciló entre 71.1% y 83.3%, mientras que la retención reveló un valor mínimo de 37.4% y uno máximo de 55.4% de la ingesta de nitrógeno. Al cumplir el experimento 86 días, los cerdos habían aumentado un promedio de 8 kg. de peso; no presentaron signos de efectos adversos durante todo el período experimental.

<sup>3</sup> Cortesía de la casa Hoffman La Roche, Ciudad de Guatemala.

## DISCUSION

Como en el caso de estudios anteriores en polluelos (3), en ratas (6) y en niños (11), los niveles relativamente altos de la Mezcla Vegetal INCAP 9 que se administraron a perros y cerdos fueron bien tolerados y el balance de nitrógeno, así como el crecimiento, fueron tan buenos como los obtenidos con proteínas de origen animal. Es de interés tomar nota de que, como se ha demostrado previamente en estudios en niños (11), la retención de nitrógeno con la Mezcla Vegetal 9 fue alta en este caso, lo que también sucedió cuando se alimentaron con dietas a base de caseína, aunque la absorción de nitrógeno de la mezcla vegetal fue inferior que la obtenida con la dieta de caseína. Por consiguiente, en el caso de cerdos y perros el porcentaje de retención de nitrógeno absorbido es ligeramente más alto con la Mezcla Vegetal INCAP 9. Con base en la línea de regresión entre la ingesta y la retención de nitrógeno se calculó que el equilibrio de nitrógeno en perros en proceso de crecimiento ocurre a una ingesta aproximada de 2.0 g. de proteína de la Mezcla Vegetal/kg./día, ó 1.75 g. de proteína de la caseína. Si se toma en consideración el nitrógeno absorbido, en vez de nitrógeno ingerido, el equilibrio de nitrógeno se obtiene cuando el animal absorbe más o menos 1.0 g. de proteína de la Mezcla Vegetal INCAP 9 ó 1.6 g. de caseína. El contenido de gosipol libre y total de la mezcla, cuya fórmula incluye un 38% de la harina de semilla de algodón, dio promedios de 0.02 y 0.38%, respectivamente. Sin embargo, el valor promedio de lisina disponible es de 3.65 g. de lisina / 16 g. de nitrógeno. Los perros del primer experimento recibieron un máximo de 9 mg. y un mínimo de 5 mg. de gosipol libre/kg./día por un período de 34 días, sin efectos fisiológicos adversos aparentes. La acción tóxica del gosipol probablemente es más notoria cuando la calidad proteica de la dieta es deficiente. En este respecto cabe señalar que, aun cuando Eagle (7) encontró en sus experimentos en perros que la cantidad de 10 mg. de gosipol libre/kg./día era tóxica para estos animales, en su informe no se refiere a la calidad proteica de la dieta.

Hale y Lyman (8) establecieron que el nivel de tolerancia de gosipol libre en los cerdos era de 0.01% cuando la dieta contenía 15% de proteína y de 0.03% cuando el contenido

proteico de ésta ascendía a 30%. En el estudio de que aquí se da cuenta, los marranos consumieron, por día, de 132 a 598 g. de Mezcla Vegetal INCAP 9 cocida. Esta misma cantidad de mezcla, sin cocer, había dado anteriormente una ingesta de gosipol libre de 0.025 a 0.114 g./día. Las investigaciones llevadas a cabo en estos laboratorios indican que el proceso de cocción a que se somete la mezcla al prepararla para consumo humano, reduce el contenido de gosipol libre por lo menos en un 50% del que se encuentra en la mezcla cruda (4). La ingesta de gosipol libre estimada en cerdos alcanzó, por lo tanto, un valor máximo de 0.057 g./día, o sea 0.005% de la dieta total. Los resultados constituyen una nueva prueba de que la Mezcla Vegetal INCAP 9 no ejerce ningún efecto adverso cuando se suministra en grandes cantidades. Todo lo contrario, su valor proteico es tan alto como el de la caseína.

## RESUMEN

La Mezcla Vegetal INCAP 9, que tiene la siguiente composición, expresada en porcentaje, se administró a perros y cerdos en proceso de crecimiento: 28% de masa de maíz, 28% de maicillo molido, 38% de harina de semilla de algodón, 3% de levadura torula y 3% de harina de kikuyu deshidratado. La absorción de nitrógeno fue menor al usar la mezcla que cuando se administró una dieta de proteína animal, pero como porcentaje de la ingesta la retención de nitrógeno fue la misma. El índice de la utilización proteica neta (NPU) de la Mezcla Vegetal INCAP 9B<sup>4</sup> en polluelos dio un promedio de 56.5%, y el valor biológico de ésta, en perros, de 71.2% en comparación con 77.5% en el caso de la caseína. El equilibrio de nitrógeno en perros se obtuvo con la mezcla al alimentarlos con 2 g. de proteína/kg./día en comparación con 1.75%, cuando se administró caseína. La ecuación de regresión de la relación entre el nitrógeno absorbido y el nitrógeno consumido fue:  $Y = -0.1333 + 0.4106 X$  para la Mezcla Vegetal INCAP 9, e  $Y = -0.1560 + 0.5691 X$  para la caseína. Los datos constituyen evidencia aún más amplia de que el valor nutritivo

<sup>4</sup> Fórmula 9B = maíz molido, 29; maicillo molido, 29; harina de algodón, 38; levadura torula, 3; carbonato de calcio, 1%, y 4.500 U. I. de Vitamina A/1009.

de la Mezcla Vegetal INCAP 9 se aproxima en mucho al de la caseína sin producir efectos adversos aunque se suministre en grandes cantidades durante largos períodos.

### SUMMARY

INCAP Vegetable Mixture 9, containing the following percentage composition: 28 whole corn flour, 28 whole grain sorghum, 38 cottonseed flour, 3 torula yeast and 4 kikuyu leaf meal, was fed to young growing dogs and pigs. Nitrogen absorption was less with the mixture than with animal protein diets, but the nitrogen retention as percent of intake was the same. The NPU in chicks averaged 64% and the biological value in dogs was 71.2% as compared to a value of 77.5% for casein. Nitrogen equilibrium in dogs was obtained with the mixture when dogs were fed about 2 gm. protein/kg./day as compared to 1.75% for casein. The regression equation for the relation of nitrogen absorbed to nitrogen consumed was  $Y = -0.1333 + 0.4106 X$  for Vegetable Mixture 9 and  $Y = -0.1560 + 0.5691 X$  for casein. The data are further evidence that the nutritive value of Vegetable Mixture 9 approaches that of casein and that it has only beneficial effects even when fed in large amounts for extended periods.

## CUADRO N° 1

UTILIZACION PROTEICA NETA (N.P.U.) DE LA MEZCLA INCAP 9B  
DETERMINADA EN POLLUELOS NEW HAMPSHIRE

Grupos <sup>1</sup>	Nitrógeno en carcás g.	Nitrógeno ingerido g.	Corrección <sup>2</sup> g.	N.P.U. <sup>3</sup>
1	16.284	9.024	10.721	61.6
2	15.387	8.393	10.675	56.1
3	17.478	10.270	10.721	65.8
4	17.820	11.518	10.675	62.0
5	15.996	10.518	10.721	50.2
6	15.682	8.846	10.675	56.6
7	17.457	10.245	10.721	65.7
8	17.495	11.563	10.675	59.0

<sup>1</sup> Cada grupo, de cinco polluelos.

<sup>2</sup> Nitrógeno en el carcás del grupo testigo — Nitrógeno ingerido por grupo testigo.

<sup>3</sup> N.P.U = 
$$\frac{N \text{ en carcás del grupo experimental} - (N \text{ en carcás del grupo testigo} - N \text{ ingerido por grupo testigo})}{\text{Nitrógeno ingerido por grupo experimental}}$$

## CUADRO N° 2

## COMPOSICION DE LAS DIETAS EXPRESADAS EN PORCENTAJE

INGREDIENTES	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3
Mezcla Vegetal INCAP 9 . . . . .	73.00	—	—
Caseína . . . . .	—	20.00	—
Grasa vegetal hidrogenada . . . . .	10.00	10.00	10.00
Minerales <sup>1</sup> . . . . .	2.00	2.00	2.00
Aceite de hígado de bacalao . . . . .	1.00	1.00	1.00
Celulosa . . . . .	—	2.70	—
Azúcar . . . . .	14.00	15.00	18.00
Dextrina . . . . .	—	12.70	18.00
Dextrosa . . . . .	—	36.00	18.00
<b>Total . . . . .</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	<b>67.00</b>
Solución de vitaminas, ml. <sup>2</sup> . . . . .	3	3	3
Calorías calculadas/100 g. . . . .	421	436	306
Contenido de nitrógeno . . . . .	3.12	3.05	0.06

<sup>1</sup> Bressani et al. (6)<sup>2</sup> Manna y Hauge (9)

CUADRO N° 3  
**RESULTADOS DE ESTUDIOS DE BALANCE DE NITROGENO EN PERROS ALIMENTADOS CON LA  
 MEZCLA VEGETAL INCAP 9**  
 (mg.N./kg./día)

Perro N°	N° Período	Ingesta N.	N. Fecal	N. Urinario	N. Abs.	N. Ret.	% Abs.	% Ret. (Ingesta N)	% Ret. (abs. N.)	Peso Kg.
10	1	1455	332	682	1123	441	77.29	30.3	39.3	2.15 <sup>1</sup>
	2	1279	294	611	985	374	77.0	29.2	38.0	—
	3	1166	228	558	938	380	80.4	32.6	40.5	3.01 <sup>2</sup>
11	1	1553	373	780	1180	400	76.0	25.7	33.9	2.00 <sup>1</sup>
	2	1334	293	628	1041	413	78.0	30.9	39.7	—
	3	1214	324	540	890	350	73.3	28.8	29.3	2.90 <sup>2</sup>
12	1	1887	464	1001	1423	422	75.4	22.4	29.6	1.62 <sup>1</sup>
	2	1580	364	860	1216	356	77.0	22.5	29.3	—
	3	1390	293	558	1097	539	78.9	38.8	49.1	2.56 <sup>2</sup>
13	1	1220	302	660	918	258	75.2	21.1	28.1	2.58 <sup>1</sup>
	2	1125	275	508	850	342	75.6	30.4	40.2	—
	3	1058	264	495	789	294	74.6	27.8	37.3	3.37 <sup>2</sup>
	Promedio	1355	317	657	1038	381	76.6	28.1	36.7	—

1, 2 = Peso inicial y peso final, respectivamente.

CUADRO Nº 4

VALOR BIOLÓGICO DE LA MEZCLA VEGETAL INCAP 9 Y CASEÍNA ADMINISTRADAS A PERROS  
EN PROCESO DE CRECIMIENTO

(g. N./kg./día)

Perro Nº	Sexo	Proteína	Nitrógeno ingerido	Nitrógeno fecal	Nitrógeno urinario	Nitrógeno metabólico fecal	Nitrógeno urinario endógeno	Valor Biológico %
D-7	♀	V. M. 9	0.563	0.208	0.178	0.038	0.085	76.3
		Caseína	0.610	0.086	0.208	0.038	0.085	78.1
D-8	♀	V. M. 9	0.527	0.143	0.231	0.023	0.113	71.0
		Caseína	0.627	0.023	0.280	0.023	0.113	73.4
D-9	♀	V. M. 9	0.647	0.155	0.241	0.032	0.115	76.0
		Caseína	0.643	0.041	0.252	0.032	0.115	78.4
D-11	♂	V. M. 9	0.717	0.235	0.250	0.017	0.104	70.7
		Caseína	0.708	0.032	0.228	0.017	0.104	82.1
D-12	♂	V. M. 9	0.729	0.239	0.335	0.039	0.109	61.8
		Caseína	0.751	0.063	0.286	0.039	0.109	75.7

CUADRO N° 5

ESTUDIOS DE BALANCE DE NITROGENO EN CERDOS ALIMENTADOS CON MEZCLA VEGETAL INCAP 9  
(PROMEDIO DE 3 CERDOS)

(g./kg./día)

Período de balance	Días después de iniciado el experimento	Peso kg.	N I T R O G E N O					% . Abs.	% . Ret.
			Ingesta	Fecal	Orina	Abs.	Ret.		
1	8	5.08	1.46	0.42	0.49	1.04	0.55	71.1	37.4
2	16	5.91	1.61	0.37	0.50	1.23	0.73	76.7	45.3
3	22	7.04	2.02	0.44	0.65	1.58	0.93	78.0	45.8
4	29	8.11	1.90	0.40	0.62	1.49	0.87	78.9	45.9
5	36	9.02	2.15	0.45	0.57	1.70	1.13	79.2	52.6
6	43	10.68	2.52	0.42	0.70	2.10	1.40	83.3	55.4
7	50	12.73	2.60	0.53	0.80	2.07	1.27	79.5	48.8
8	57	14.55	2.29	0.49	0.71	1.80	1.09	78.6	47.8
9	72	18.49	1.97	0.38	0.68	1.59	0.91	80.4	45.6
10	86	23.26	1.92	0.34	0.65	1.58	0.93	82.2	48.5

## MEZCLA VEGETAL No. 9

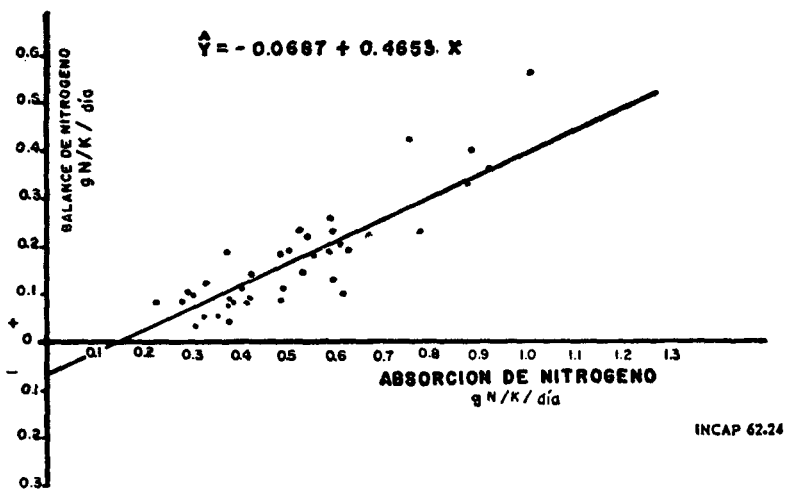
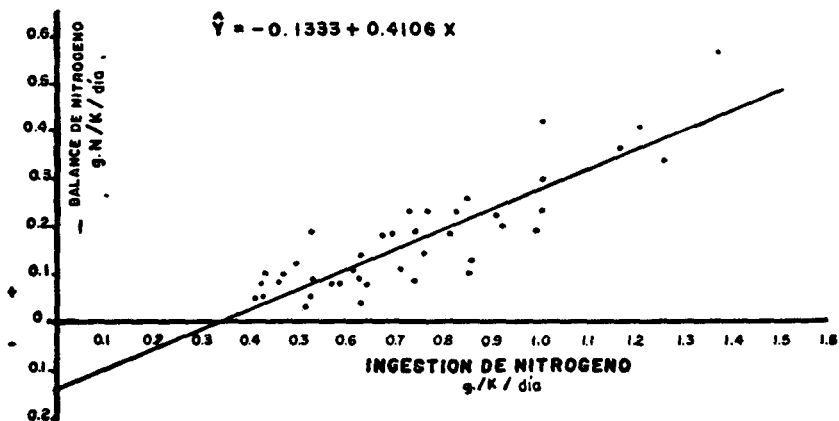


FIGURA N<sup>o</sup> 1.—Relación entre la ingestión y absorción de nitrógeno y el balance de nitrógeno en perros alimentados con Mezcla Vegetal 9.

CASEINA

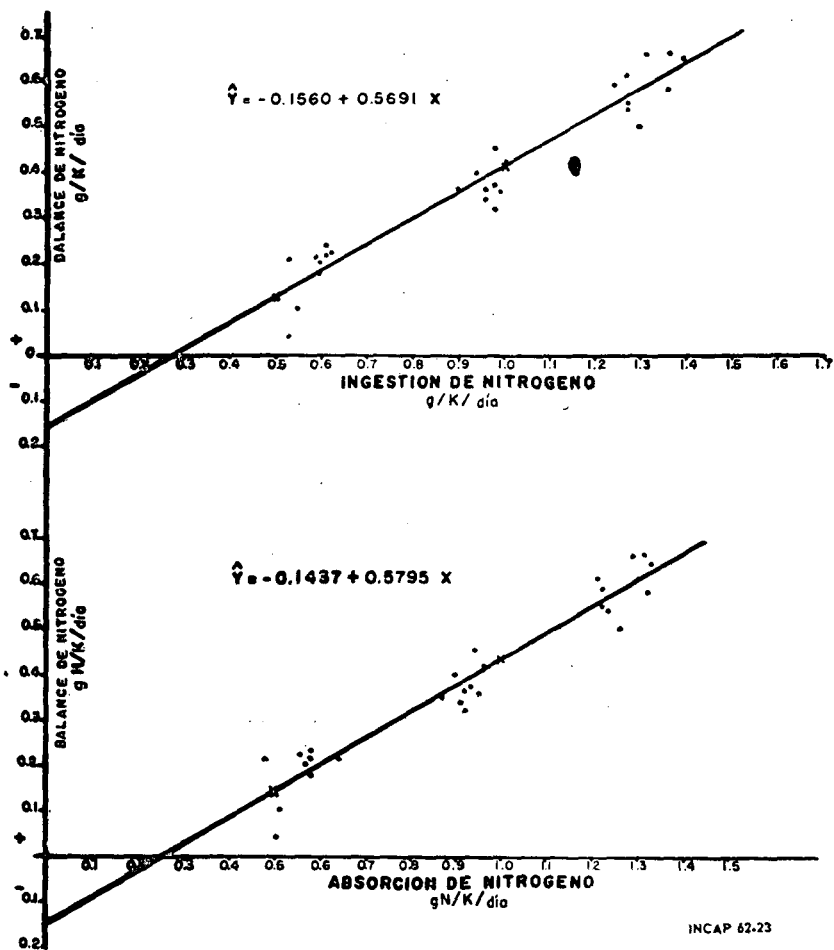


FIGURA N° 2.—Relación entre la ingestión y absorción de nitrógeno y el balance de nitrógeno en perros alimentados con caseína.

## BIBLIOGRAFIA

- (1) Bender, A. E., y Miller, D. S.—“A new brief method of estimating net protein value.” *Biochem. J.*, 53:vii, 1953.
- (2) Braham, J. E.; Bressani, R., y Guzmán, M. A.—“A rapid procedure for the determination of net protein utilization (NPU) with New Hampshire chicks.” *Fed. Proc.* 18:518, 1959.
- (3) Bressani, R.; Aguirre, A.; Elías, L. G.; Arroyave, G.; Jarquín, R., y Scrimshaw, N. S.—“All-vegetable protein mixtures for human feeding. IV. Biological testing of INCAP Vegetable Mixture Nine in chicks.” *J. Nutrition*, 74:209, 1961.
- (4) Bressani, R., y Elías, L. G.—“All-vegetable protein mixtures for human feeding. XIII. Changes in the vitamin, gossypol e-amino lysine and nutritive value during cooking.” (Manuscrito en preparación.)
- (5) Bressani, R.; Elías, L. G.; Aguirre, A., y Scrimshaw, N. S.—“All-vegetable protein mixtures for human feeding. III. The development of INCAP Vegetable Mixture 9.” *J. Nutrition*, 74:201, 1961.
- (6) Bressani, R.; Elías, L. G., y Scrimshaw, N. S.—“All-vegetable protein mixtures for human feeding. VIII. Biological testing of INCAP Vegetable Mixture Nine in rats.” (Enviado para publicación.)
- (7) Eagle, E.—“Effect of repeated doses of gossypol on the dog.” *Arch. Biochem. Biophys.* 26:68, 1950.
- (8) Hale, F., y Lyman, C. M.—“Effect of protein level in the ration on gossypol tolerance in growing-fattening pigs.” *J. Animal Sci.* 16:364, 1957.
- (9) Manna, L., y Hauge, S. M.—“A possible relationship of vitamin B<sub>12</sub> to orotic acid.” *J. Biol. Chem.*, 202:91, 1953.
- (10) Mitchell, H. H.—“A method of determining the biological value of protein.” *J. Biol. Chem.* 58:873, 1923-24.
- (11) Scrimshaw, N. S.; Béhar, M.; Wilson, Dorothy; Viteri, F.; Arroyave, G., y Bressani, R.—“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, 1961.