EFECTO DE VARIOS PROCESOS SOBRE LA CALIDAD PROTEINICA DE UN ALIMENTO A BASE DE SOYA Y DE MAIZ[1]

Juana Tejerina[2], *Roberto A. Gómez-Brenes*[3] y *Ricardo Bressani*[4]

Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), Guatemala, C.A.

RESUMEN

En el presente estudio se informa sobre la evaluación del efecto de varios métodos de procesamiento en el valor proteínico de Maisoy, una mezcla que contiene 30% de soya íntegra y 70% de maíz. Los procesos evaluados fueron: a) cocción húmeda alcalina usando hidróxido de calcio; b) tostación, y c) extrusión usando un equipo conocido como el Brady Crop Cooker. Además de procesar la misma mezcla por los tres métodos indicados, se evaluó una muestra de Maisoy producida en Bolivia con el equipo de extrusión a que se alude. La evaluación de todas las mezclas de los 3 procesos se realizó aplicando el método del índice de eficiencia proteínica (PER). Dos de las preparaciones, la producida por cocción alcalina y la producida por tostación fueron también evaluadas en su capacidad de inducir cambios en el contenido de ácido deoxirribonucleico, ácido ribonucleico y proteína del músculo, y del hígado. El resultado de la cocción alcalina y de la cocción por extrusión fue un alimento cuyo índice de eficiencia proteínica osciló entre 2.30 y 2.60. Ambos procesos destruyeron los factores antifisiológicos de la soya. El proce-

Recibido: 25-2-1976

1 Este trabajo se llevó a cabo con ayuda financiera de la Research Corporation, N.Y. (Subvención INCAP No. 740).

2 Becaria del curso de posgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos del Centro de Estudios Superiores en Nutrición y Ciencias de Alimentos (CESNA), Universidad de San Carlos de Guatemala/INCAP.

3 Científico de la División de Ciencias Agrícolas y de Alimentos del INCAP.

4 Jefe de la citada División.

Publicación INCAP E– 916

so de tostación dio un producto de sabor muy agradable pero de baja calidad proteínica. La adición de metionina mejoró la calidad del alimento procesado por cocción alcalina, pero no la del producto tostado, el cual acusó un pequeño mejoramiento al agregarle metionina y lisina. Los efectos adversos de la tostación se observaron también en la síntesis proteínica en el músculo y en el hígado a juzgar por los cambios en su contenido de proteína total y ácidos deoxirribonucleico y nucleico. A pesar de que el proceso de tostación produce un alimento de sabor y palatabilidad muy agradables, éste destruye significativamente la calidad proteínica, la que no se logra mejorar con la adición de aminoácidos.

INTRODUCCION

Recientemente se logró desarrollar un alimento rico en proteína de buena calidad y de contenido relativamente alto en grasa, conocido como Maisoy (1), usando un proceso de cocción alcalina similar al que se utiliza para la preparación de tortillas (2). Este alimento, consistente en una mezcla de 70 partes de maíz y 30 partes de soya íntegra, es de valor proteínico relativamente alto, ya que los aminoácidos de los dos componentes se complementan entre sí. En vista de esto, se consideró de interés establecer si la mezcla retenía su valor proteínico usando además del método de cocción húmeda y alcalina, otros métodos de procesamiento. Uno de ellos fue a través de cocción por extrusión, y el otro método, el de tostación. Ambos procesos hacen uso de altas temperaturas, con la diferencia de que el primero requiere corto tiempo, mientras que el segundo requiere mayor duración. Por otro lado, la tostación da origen a productos de mejor sabor. Es un hecho bien establecido que las altas temperaturas tienden a reducir la calidad de la proteína (3) por inactivación de ciertos aminoácidos o por destrucción de los mismos.

El presente estudio tuvo por objetivo evaluar la calidad proteínica del alimento de maíz/soya procesado de las tres maneras indicadas, y conocer el efecto de la suplementación con posibles aminoácidos limitantes. La evaluación de todas las mezclas de los 3 procesos se llevó a cabo usando el método del índice de eficiencia proteínica (PER). Dos de las preparaciones, la derivada del proceso de cocción húmeda y alcalina y la tostación fueron también evaluadas a través de los cambios en el contenido de ácido deoxirribonucleico, ribonucleico y proteína del músculo y del hígado de ratas que consumieron el alimento procesado, con y sin suplementación de aminoácidos. Las muestras obtenidas por extrusión no se sometieron a este análisis por falta de suficiente material.

MATERIALES Y METODOS

Procesamiento del Alimento

En todos los casos se obtuvo una mezcla de maíz y de grano de soya en la proporción de 70/30 por peso. Una parte de la mezcla se procesó usando una cocción húmeda alcalina con 0.5% de hidróxido de calcio en base al peso del grano, según el procedimiento ya descrito (4). Luego, el material cocido, lavado y molido se dividió en dos porciones iguales: una fue deshidratada en un secador de bandejas a 60°C por 24 horas, y la otra se deshidrató en un secador de tambores de 4 rpm. Ambos productos fueron molidos a un grueso de 60 mallas.

Otra parte de la mezcla de maíz y soya en crudo se introdujo en el cilindro de un tostador rotatorio, habiéndose sometido a la temperatura de 325°C por 20 minutos. Después de enfriar el material se molió en la forma indicada.

La tercera parte de la mezcla se cocinó con un aparato de extrusión conocido como Brady Crop Cooker, diseñado para procesar el grano de soya a nivel de producción de esta leguminosa. La mezcla se sometió a cocción a la temperatura de 350°F y a una velocidad de producción de 350 kg/hora. Además, se obtuvo una muestra con la misma composición de ingredientes que la procesada en Bolivia[5] con el mismo tipo de equipo.

Todas las muestras fueron analizadas para determinar su contenido de proteína.

EVALUACION BIOLOGICA

Experimento 1

En este primer ensayo se utilizaron 48 ratas Wistar de 21 días de edad, de la colonia de INCAP, las cuales fueron distribuidas en 6 grupos experimentales, usando 8 animales por grupo. Las ratas se alojaron en jaulas individuales y fueron alimentadas ad libitum por 28 días con las dietas preparadas a base del alimento Maisoy, crudo y procesado por los métodos ya indicados. Las dietas contenían 10% de proteína derivada exclusivamente de la mezcla maíz/soya y suplementadas con 4% de minerales (5) y 2% de aceite de soya o sea un total de 6% de aceite en la dieta; se le agregó asimismo, 1% de aceite de hígado de bacalao y almidón hasta ajustar a 100%. Además, se le adicionó 5 ml de una solución de vitaminas del complejo B (6).

5 Maisoy. Producida por el Sr. Pedro Bleyer Presser, Maysoy, S.A., Santa Cruz de la Sierra, Bolivia.

A partir de los datos de aumento en peso y consumo de alimento se calculó el índice de eficiencia proteínica. Al término del experimento, los animales fueron sacrificados y se les extrajo el páncreas, el cual se pesó.

Experimento 2

En el caso de este segundo experimento se utilizó un total de 72 ratas Wistar, también de 21 días de edad, las cuales se dividieron en 6 grupos de 12 animales cada uno, usando el mismo número de machos y hembras por grupo. Los animales fueron alimentados con las dietas descritas en la Tabla 1. A los 14 días se sacrificaron 6 ratas de cada grupo y las 6 restantes, a los 28 días.

A todos los animales se les extrajo el hígado y el músculo gastrocnemio, materiales que fueron almacenados bajo congelación hasta el momento de someterlos a análisis por proteína, DNA y RNA por el método de Hutchison y Munro, modificado por Wannemacher (7).

Estos análisis fueron efectuados en una muestra de 3 ratas, de tal manera que de cada grupo se obtuvo un total de 4 muestras. Estas fueron analizadas en triplicado.

RESULTADOS

Los datos del primer experimento se detallan en la Tabla 2. Según se observa, los mayores aumentos ponderables fueron obtenidos con las mezclas preparadas de la cocción alcalina secada en horno de bandejas, y los dos productos obtenidos por extrusión. El producto tostado produjo pérdida de peso, lo que no sucedió con el producto crudo. El índice de eficiencia proteínica guardó concordancia con los resultados de aumento ponderal logrados con el producto tostado, dando valores negativos para la relación de aumento en peso/proteína ingerida. El producto obtenido por cocción alcalina así como los resultantes del proceso de extrusión dieron valores altos.

La Tabla 2 también muestra el peso del páncreas que, con la excepción del de los animales alimentados con el producto tostado, fue menor para el grupo alimentado con soya cruda que con soya procesada por los métodos ya indicados.

Los aumentos en peso que las ratas acusaron a los 14 y 28 días de iniciado el experimento No.2 se muestran en la Tabla 3. En este experimento sólo se sometieron a prueba la mezcla producida por cocción alcalina y la obtenida por tostación, con el agregado de metionina en el primer caso, y de metionina y metionina más lisina, en el segundo. Según revelan los datos, la adición de metioni-

TABLA 1

DIETAS ELABORADAS A BASE DE MAIZ/SOYA ENRIQUECIDAS CON LISINA Y METIONINA

(Experimento No. 2)
g/100 g

Ingredientes de la dieta	Dieta No.					
	1	2	3	4	5	6
Harina experimental	54.35	54.35	50.00	50.00	50.00	–
Minerales	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Aceite de soya	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Aceite de hígado de bacalao	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Metionina	–	0.20	–	0.20	0.20	–
Lisina	–	–	–	–	0.20	–
Caseína	–	–	–	–	–	11.36
Almidón	35.65	35.45	40.00	39.80	39.60	78.64
Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Vitaminas, mg/100g	5	5	5	5	5	5

Producto 1: maíz/soya por cocción alcalina y secado en horno de bandeja (Dietas No. 1 y 2).
Producto 4: maíz/soya tostada (Dietas No. 3, 4 y 5).
Cada dieta contenía 10% de proteína. (La dieta No. 6 contenía caseína).

TABLA 2

AUMENTO EN PESO Y EFICIENCIA (PER) DE LAS RATAS ALIMENTADAS CON MAISOY PROCESADO DE DIFERENTE FORMA

Producto procesado	Aumento en peso, g	Alimento ingerido, g	PER	Peso del páncreas, g
Crudo	20 ± 3.2	197 ± 15.0	1.03	0.344 ± 0.021
Tostado	−2 ± 1.0	143 ± 9.6	–	0.191 ± 0.014
Cocción alcalina*	82 ± 5.7	320 ± 22.1	2.60	0.531 ± 0.020
Cocción alcalina**	70 ± 6.8	294 ± 18.5	2.30	0.434 ± 0.032
Brady Crop Cooker	82 ± 5.7	331 ± 17.0	2.60	0.444 ± 0.039
Brady Crop Cooker***	78 ± 5.2	299 ± 35.3	2.43	0.461 ± 0.029

* Deshidratación en horno de bandeja.
** Deshidratación por rodos.
*** Preparada en Bolivia.

na a la mezcla procesada por cocción alcalina indujo un mayor aumento en peso que la mezcla no suplementada, efecto más evidente a los 28 que a los 14 días. En el caso de la mezcla tostada, tanto la que no fue suplementada como la que fue suplementada con metionina indujeron pérdidas de peso. La adición de metionina y lisina a este preparado rindió aumentos ponderales pero éstos estuvieron muy por debajo de los obtenidos con la muestra cocida en álcali sin suplemento de metionina. La Tabla también muestra el consumo de alimento y los valores de eficiencia proteínica. Al igual que como los de aumento en peso, estos datos de nuevo indican el efecto positivo de la adición de metionina a la mezcla procesada por cocción alcalina, y un ligero aumento en la mezcla tostada y suplementada con lisina y metionina. Los datos del PER no concuerdan con los anteriores, ya que se refieren al período específico de 0-14 días y de 14 a 28 días.

El contenido de proteína del hígado y del músculo a los 14 y 28 días, de las ratas alimentadas con las diferentes dietas, se resume en la Tabla 4. Para la mezcla cocida en álcali, la adición de metionina aumentó el contenido proteínico tanto en el músculo como en el hígado, efecto que se hizo más evidente a los 14 que a los 28 días, tiempo en el que las diferencias tienden a reducirse. En el caso de la mezcla de soya/maíz tostado, el efecto de los aminoácidos sobre la deposición de proteína acusó diferencias en el músculo y en el hígado. La adición de metionina indujo deposición de

TABLA 3

AUMENTO EN PESO, CONSUMO DE ALIMENTO Y PER, DETERMINADOS A LOS 14 y 28 DIAS, EN RATAS ALIMENTADAS CON MAISOY SUPLEMENTADO CON AMINOACIDOS

		Aumento en peso, g		Alimento ingerido		PER*	
roceso	Suplemento	14 días	28 días	14 días	28 días	14 días	28 días
occión lcalina	Ninguno	44 ± 3.2	74 ± 6.4	176 ± 8.8	361 ± 21.0	2.50	2.05
occión lcalina	Metionina	50 ± 3.2	93 ± 7.2	145 ± 5.7	412 ± 24.0	3.45	2.26
ostado	Ninguno	–4 ± 0.7	–6 ± 0.8	62 ± 5.3	155 ± 25.9	–	–
ostado	Metionina	–3 ± 0.5	–4 ± 0.6	73 ± 3.3	170 ± 19.7	–	–
ostado	Metionina Lisina	4 ± 1.9	17 ± 4.3	100 ± 10.1	206 ± 19.6	0.40	0.80
aseína	—	51 ± 3.5	99 ± 10.8	158 ± 5.6	327 ± 48.7	3.23	3.03

El índice de eficiencia proteínica se refiere a valores de 6 ratas obtenidos a los 14 días y a 6 ratas, a los 28 días, calculado para los últimos 14 días.

TABLA 4

VALORES DE PROTEINA EN HIGADO Y MUSCULO DE RATAS ALIMENTADAS CON DIETAS A BASE DE SOYA MAS LISINA Y METIONINA

Dietas	Proteína Hígado 14 días	Proteína Hígado 28 días	Proteína Músculo 14 días	Proteína Músculo 28 días
	mg/g de tejido		mg/g de tejido	
Soya cocida con cal y secada en horno de bandeja	58.6	78.2	55.2	69.2
Soya cocida con cal y secada en horno de bandeja + 0.2% de metionina	75.8	81.5	66.8	76.9
Soya tostada	46.8	41.9	18.9	25.9
Soya tostada + 0.2% de metionina	53.1	43.4	45.0	45.5
Soya tostada + 0.2% de lisina y metionina	47.7	36.9	46.1	46.1
Caseína	91.5	91.5	71.6	80.6

proteína en el hígado y en el músculo, pero fue mayor en el segundo que en el primero, tanto a los 14 como a los 28 días de experimentación. El agregado de lisina y metionina, sin embargo, no indujo mejor deposición de proteína en el hígado que la producida por la adición de solo metionina, tanto así que los valores fueron ligeramente inferiores a los obtenidos sin suplementación. Ahora bien, en el caso del músculo, el agregado de los dos aminoácidos causó un ligero incremento en el contenido de proteína por encima del valor encontrado cuando la mezcla se suplementó sólo con metionina.

Finalmente, la mezcla cocida con álcali y suplementada con metionina acusó valores que se aproximaban bastante a los observados con la dieta de caseína. El contenido de DNA en hígado y músculo se presenta en la Tabla 5. Para la mezcla de soya y maíz cocido en álcali, la adición de metionina no cambió el DNA/g de tejido ni en el músculo ni en el hígado. En el caso de la elaborada

TABLA 5

VALORES DE DNA EN HIGADO Y MUSCULO DE RATAS ALIMENTADAS CON DIETAS A BASE DE SOYA Y MAIZ

Dietas	DNA Hígado 14 días	DNA Hígado 28 días	DNA Músculo 14 días	DNA Músculo 28 días
	mg/g de tejido		mg/g de tejido	
Soya cocida con cal y secada en horno de bandeja	0.90	1.00	0.69	0.70
Soya cocida con cal y secada en horno de bandeja + 0.2% de metionina	0.85	0.90	0.68	0.70
Soya tostada	0.57	0.74	0.33	0.35
Soya tostada + 0.2% de metionina	0.66	0.82	0.42	0.48
Soya tostada + 0.2% de lisina y metionina	0.57	0.86	0.53	0.55
Caseína	1.12	1.20	0.69	0.73

con soya y maíz tostado se observó un pequeño aumento en el contenido de DNA del hígado y mayor en el músculo al adicionarle metionina y metionina más lisina. Estos valores no llegaron a ser los constatados con la dieta de caseína, exceptuando los del músculo en las ratas alimentadas con la mezcla cocida en álcali y suplementada con metionina. Por último, la Tabla 6 muestra el contenido de RNA en mg/g de tejido, en el músculo y en el hígado, respectivamente. La adición de metionina a la mezcla cocida en álcali no produjo ningún cambio, pero la de metionina y de metionina más lisina a la mezcla tostada, sí aumentó el RNA en el músculo pero no en el hígado, siguiendo tendencias parecidas a las que causó el contenido de proteína.

DISCUSION

Los resultados del primer experimento indican una baja calidad proteínica de la mezcla de soya/maíz cruda, debido posible-

TABLA 6

VALORES DE RNA EN HIGADO Y MUSCULO DE RATAS ALIMENTADAS CON DIETAS A BASE DE SOYA Y MAIZ MAS LISINA Y 0.2% DE METIONINA

Dietas	RNA		RNA	
	Hígado 14 días	Hígado 28 días	Músculo 14 días	Músculo 28 días
	mg/g de tejido		mg/g de tejido	
Soya cocida con cal y secada en horno de bandeja	7.3	9.4	0.97	1.03
Soya cocida con cal y secada en horno de bandeja + 0.2% de metionina	7.6	9.0	0.93	1.12
Soya tostada	4.9	1.4	0.52	0.72
Soya tostada + 0.2% de metionina	5.2	1.8	0.87	0.88
Soya tostada + 0.2% de lisina y metionina	6.2	1.6	0.99	1.00
Caseína	9.2	10.4	1.35	1.89

mente al efecto de los inhibidores presentes en la soya, según lo sugiere el peso del páncreas de los animales. Estos efectos de la soya cruda han sido plenamente reconocidos (8). Es de interés indicar que el proceso de cocción alcalina es efectivo en destruir esos factores y mantener una calidad proteínica relativamente alta como ya se informara en el caso de este producto procesado por el mismo método (1). Asimismo, el método de cocción por extrusión destruyó esos factores, siendo el resultado también un alimento de alto valor proteínico. Por el contrario, el proceso de tostación que rinde un producto de sabor sumamente agradable, destruye su valor proteínico.

Es un hecho documentado que los procesos de alta temperatura destruyen o inactivan los aminoácidos (3), efecto que explica el bajo valor proteínico de este preparado. Es probable que el uso de condiciones menos extremas habría proporcionado un alimento de mejor calidad proteínica, aunque no tan bueno como el obtenido por cocción alcalina húmeda.

Es de interés subrayar que el tratamiento alcalino de la soya reduce su calidad proteínica y produce sustancias de acción fisiológica adversa, tales como los aminoácidos lisilalanina, lantimina y omitinoalanina (9). Este efecto no se observó en el presente caso, ya que el pH fue de 9-10, y el tiempo de cocción sólo de 90 minutos. La combinación de un pH alcalino de 12 y tiempos de contacto de más de 2 horas induce los cambios indicados.

Los efectos suplementarios de la metionina y de la metionina más lisina observados en el segundo experimento corroboran lo dicho con respecto a la mezcla tostada. La mezcla cocida con álcali y por extrusión es deficiente en metionina (1), por lo que la suplementación con este aminoácido es necesaria. No obstante, la tostación alteró el orden de deficiencia, inactivando o destruyendo la lisina y posiblemente otros aminoácidos, de manera que la metionina ya no llegó a constituir el aminoácido más deficiente. El hecho de que aun con el agregado de lisina y metionina el PER mejoró en muy poco grado, sugiere que otros aminoácidos están involucrados.

Los efectos de los aminoácidos sobre la síntesis proteínica son de interés con respecto a la actividad metabólica de dos tejidos orgánicos: uno sumamente activo como es el hígado, y el otro más lento como lo es el músculo, de acuerdo a los resultados concurrientes – contenido de proteína, DNA y RNA de esos órganos.

La relación de proteína a DNA mide el tamaño de la célula tanto en el músculo como en el hígado, así como la relación de RNA/DNA (7). En general, y según lo destaca la Figura 1, la adición de metionina a la mezcla cocida en álcali indujo un pequeño aumento en RNA/DNA, alza que fue mayor en la relación proteína/DNA, tanto en el hígado como en el músculo. Sin embargo, esto no ocurrió en los animales que consumieron el producto tostado suplementado con metionina o metionina más lisina, salvo en la relación de proteína/DNA del músculo. En esos casos hubo un pequeño descenso sugerente de degradación del RNA para compensar los aminoácidos adicionados, que posiblemente fueron utilizados por los animales para la síntesis de otras proteínas que no podían producirse a través de la ingesta de la dieta.

El total de RNA/DNA y proteína/DNA del hígado están relacionados con la calidad de la dieta, ya que se puede observar un descenso de estos valores en el período comprendido entre los 14 y los 28 días en las ratas que consumieron las mezclas tostadas, con o sin suplemento de aminoácidos. Estos resultados indican que la síntesis proteínica no pudo mantenerse a expensas de la dieta, debido posiblemente al daño que la proteína sufrió por la tostación, proteína cuyo valor no pudo mejorarse por la adición de lisina y metionina. Las células hepáticas de los animales que consumieron

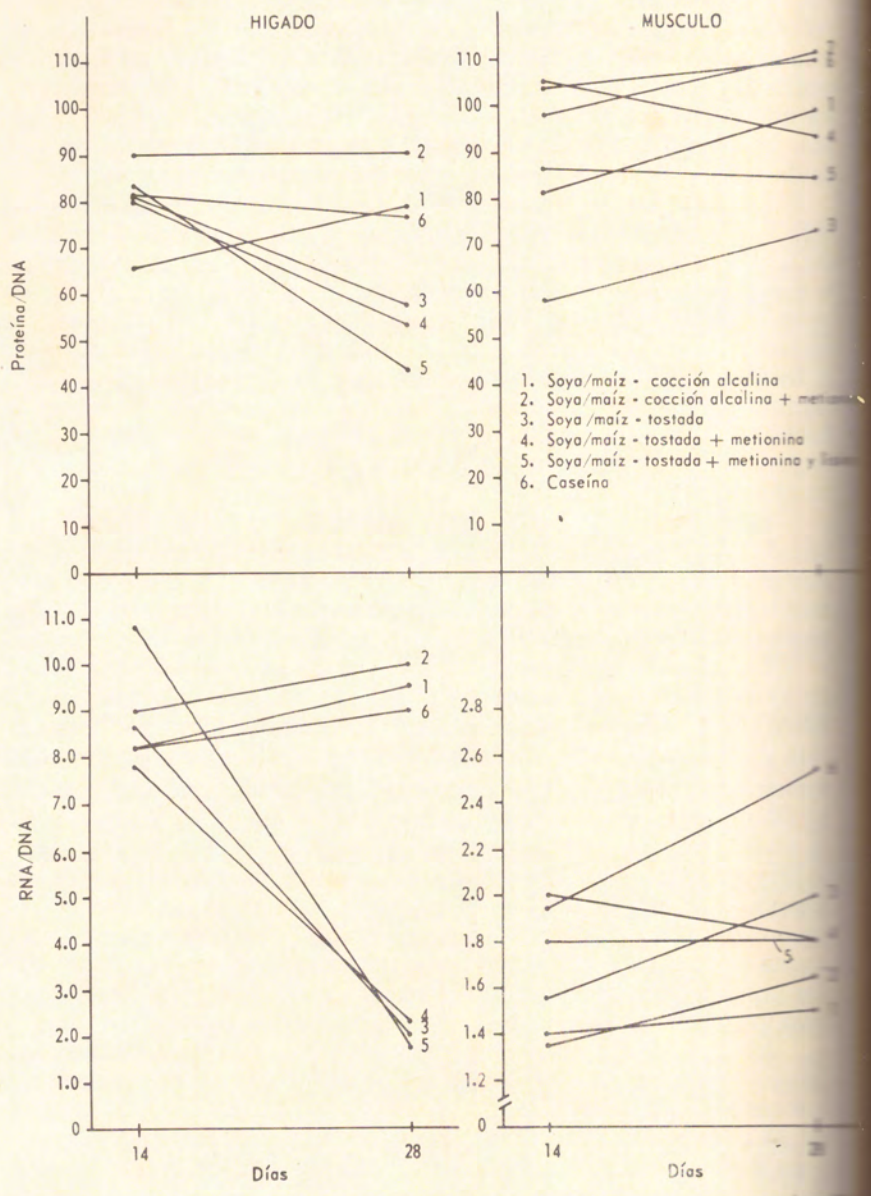

FIGURA 1

Relación RNA/DNA y de proteína/DNA en hígado y músculo de ratas alimentadas con dietas a base de soya y maíz.

las mezclas procesadas por cocción alcalina, y la de las ratas con- ... alimentadas con caseína, almacenaron cantidades considera- ...mente mayores de proteína celular. Se puede asimismo observar que los valores a los 28 días reflejan bastante bien los índices de eficiencia proteínica encontrados en este estudio. Otros investiga- ...res informan resultados similares en pollos alimentados con pro- ...ína de trigo suplementada con lisina (10).

La relación proteína/DNA del músculo refleja también el efecto de la calidad de la dieta, pudiéndose observar valores meno- ...s de este parámetro con las dietas a base de soya tostada. Respec- ...o a la relación RNA/DNA de este órgano, los cambios observados no reflejan el efecto de la dieta tan dramáticamente como el híga- ..., lo que sugiere que el músculo es un tejido más resistente a la depauperación proteínica y menos activo metabólicamente que el hígado, a través de un menor catabolismo proteínico.

Los datos, por consiguiente, sugieren un aumento en tamaño de la célula muscular debido a la suplementación. Este incremento está relacionado a la calidad del producto destruido por el proceso de tostación, y no se puede corregir totalmente por la adición de metionina y lisina. En el caso de la mezcla procesada por álcali, el hígado creció a causa del aumento en el tamaño celular, lo que no ocurrió al utilizarse el producto tostado.

Estos datos indican, por consiguiente, que el valor nutritivo de las proteínas - medido a través de los métodos disponibles - está muy correlacionado con el desarrollo y mantenimiento de células y tejidos individuales del organismo animal.

SUMMARY

Effect of various processes on the protein quality of a food based on corn and whole soybeans

The present study deals with the effect of various processing methods on the protein value of Maisoy, a blend of 30% whole soybean and 70% corn. The processes evaluated were: a) lime cooking using calcium hydroxide; b) toasting, and c) extrusion cooking, using an equipment known as the Brady Crop Cooker. The same blend of soybean/corn was processed by the same three methods. In addition, a sample of Maisoy – blend produced in Bolivia with the extrusion equipment previously indicated – was also evaluated. The evaluation of all products was carried out using the protein efficiency ratio method (PER). The capacity of two of the blends, with and without amino acid supplementation, of causing changes of deoxiribonucleic acid, ribonucleic acid, and protein in the content of muscle and liver was also measured.

Lime cooking as well as extrusion cooking yielded a food with a protein efficiency ratio which varied from 2.30 to 2.60. Both processes destroyed the antiphysiological factors of soybean.

The toasting process yielded a product of pleasant flavor, but of very low protein quality. The addition of mehionine improved the quality of the food processed by lime cooking, but not by toasting. A slight increase was obtained when methionine and lysine were added. The adverse effects of toasting were observed also in protein synthesis in muscle and liver, as judged by the changes in the content of total protein, deoxiribonucleic acid, and nucleic acid. Although the toasting process renders a product pleasant in taste and in palatability, it significantly destroys the protein quality, which does not improve even with the amino acids addition.

BIBLIOGRAFIA

1. Bressani, R., B. Murillo & L.G. Elías. Whole soybeans as a means of increasing protein and calories in maize-based diets. **J. Food Sci., 39**: 577-580, 1974.
2. Bressani, R., R. Paz y Paz & N. S. Scrimshaw. Corn nutrient losses. Chemical changes in corn during preparation of tortillas. **J. Agr. Food Chem., 6**: 770-774, 1958.
3. Bressani, R. & N. S. Scrimshaw. Lime-heat effects on corn nutrients. Effect of lime treatment on in vitro availability of essential amino acids and solubility of protein fractions in corn. **J. Agr. Food Chem., 6**: 774-778, 1958.
4. Ellis, G.P. The Maillard reaction. **Adv. Carbohydrate Chem., 14**: 63-134, 1959.
5. Hegsted, D.M., R.C. Mills, C.A. Elvehjem & E. B. Hart. Choline in the nutrition of chicks. **J. Biol. Chem., 138**: 459-466, 1941.
6. Manna, L. & S. M. Hauge. A possible relationship of vitamin B_{13} to orotic acid. **J. Biol. Chem., 202**: 91-96, 1953.
7. Wannemacher, R. W. Jr., W. L. Banks, Jr. & W. H. Wunner. Use of a single tissue extract to determine cellular protein and nucleic acid concentrations and rate of amino acid incorporation. **Anal. Biochem., 11**: 320-326, 1965.
8. Wolf, W.J. Soybean proteins: their production, properties, and food uses. A selected bibliography. **World Soy Protein Conference**, Munich, Germany, Nov. 11-14, 1973.
9. Sternberg, M., C. Y. Kim & R.A. Plunkett. Lysinoalanine determination in proteins. **J. Food Sci., 40**: 1168-1170, 1975.
10. Akinwande, A.I. & D. B. Bragg. Effect of dietary lysine level in a wheat protein diet on growth and changes in DNA, RNA and protein composition in the tissue of broiler chicks. **Poultry Scy., 53**:134-143, 1974.