

CARACTERIZACION DE LAS PROTEINAS DE LOS MAICES VENEZUELA-1, ARICHUNA, OBREGON y VENEZUELA-1 OPACO-2

Ligia Ortiz de Bertorelli¹ y Marisa Guerra²

Universidad Central de Venezuela y Universidad Simón Bolívar,
Caracas, Venezuela

RESUMEN

Se estudió la composición proteínica de semillas de los maíces híbridos Obregón y Arichuna, así como de las variedades Venezuela-1 y Venezuela-1 Opaco-2, respectivamente. Las proteínas se aislaron y se les determinó el peso molecular y su contenido de lisina y triptofano. El fraccionamiento proteínico reveló diferencias significativas entre los maíces normales y el Opaco-2. Este último presenta un bajo nivel de zeína y un alto contenido de glutelinas insolubles en alcohol (AIG), albúminas y globulinas, en comparación con el normal. El incremento relativo de estas fracciones proteínicas ricas en lisina y triptofano ocasiona un aumento de la concentración de estos aminoácidos en el grano Opaco-2, según lo revelaron los análisis de dichos compuestos realizados en los diversos maíces.

Manuscrito modificado recibido: 10-8-82.

- 1 Profesor Asociado, Instituto de Química y Tecnología, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
- 2 Profesor Agregado, Departamento de Tecnología de Procesos Biológicos y Bioquímicos, División de Ciencias Biológicas, Universidad Simón Bolívar, Apartado Postal 80659, Caracas 108, Venezuela.

En el análisis electroforético usado para determinar los pesos moleculares, se encontraron diferencias en el número y en la intensidad de las bandas de las fracciones proteínicas de los maíces estudiados. Las fracciones albúminas, globulinas, glutelinas solubles en alcohol (ASG) y AIG, son heterogéneas y están formadas por varios componentes con un amplio rango de pesos moleculares (13,000-93,000). En cambio, la fracción zeína es más homogénea y acusa sólo dos componentes con pesos moleculares muy próximos (20,300-23,000).

INTRODUCCION

El maíz está compuesto por varios tipos de proteínas, las cuales constituyen aproximadamente el 10% del grano (1). Estas proteínas son heterogéneas y presentan diferente solubilidad, lo que aunado a las interacciones moleculares ha dificultado su caracterización. Baudet *et al.* (2) aplicando el método de Osborne-Mendel fraccionaron las proteínas del maíz en cuatro grupos: albúminas, globulinas, zeínas y glutelinas. La desventaja de este procedimiento es la pérdida de cantidades variables de zeína que permanecen en la fracción glutelina debido a los enlaces disulfuros con los cuales parecen estar unidas estas fracciones. Paulis, Bietz y Wall (3) utilizaron una modificación del método de Osborne-Mendel para obtener un mejor fraccionamiento, y separaron las glutelinas en dos grupos: las reducidas solubles en alcohol (ASG), y las glutelinas insolubles en alcohol (AIG).

Las fracciones proteínicas del maíz son heterogéneas, cada fracción es altamente compleja y está formada por distintos componentes. Varios investigadores han estudiado estas fracciones y determinado su peso molecular y su composición aminoacídica (3-7). Estos estudios revelaron que las albúminas, globulinas y AIG están formadas por numerosas subunidades con un amplio rango de pesos moleculares, mientras que las zeínas y ASG son más homogéneas y presentan pocos componentes con un rango estrecho de pesos moleculares. En relación a la composición de aminoácidos de las fracciones proteínicas, se observó que la zeína es muy pobre en lisina (menos de 0.2%); las glutelinas contienen alrededor de 4%, mientras que las albúminas y globulinas son las más ricas en este aminoácido ya que acusan aproximadamente 6%.

Paulis, Bietz y Wall (3) compararon los polipéptidos de las fracciones proteínicas del maíz normal con las del Opaco-2 y Hari-

noso-2, y encontraron que estas fracciones diferían entre sí sólo en la intensidad de algunas bandas de los polipéptidos. Sodek y Wilson (5) y Misra, Mertz y Clover (6) determinaron la composición aminoacídica de las fracciones de dichos maíces, y observaron que cada fracción tenía una composición característica que era igual en el maíz normal y en los mutantes.

A pesar de los logros en el mejoramiento del maíz, se dispone de poca información relativa a las características proteínicas de los maíces desarrollados. El objetivo de nuestra investigación fue aislar y caracterizar las proteínas de las semillas de las variedades Venezuela-1, Venezuela-1 Opaco-2, y de los híbridos Obregón y Arichuna de acuerdo a su contenido de los aminoácidos lisina y triptofano, y a su peso molecular.

MATERIALES Y METODOS

Se analizaron muestras de semillas de los híbridos de maíz Obregón y Arichuna cosechados en Villa de Cura, Estado de Aragua en 1977, y de las variedades Venezuela-1 y Venezuela-1 Opaco-2 cosechadas en Maracay, Estado Aragua en 1977 (Venezuela-1) y en 1976 (Venezuela-1 Opaco-2).

Fraccionamiento de las Proteínas

El fraccionamiento proteínico se realizó según el método de Osborne-Mendel modificado por Paulis y Wall (4).

Caracterización de las Fracciones Proteínicas

Las fracciones proteínicas obtenidas se sometieron a los siguientes análisis:

Nitrógeno. Este se determinó por el método de micro Kjeldahl según lo establece la AOAC (8), en alícuotas del extracto y en el sólido liofilizado.

Lisina disponible. Su análisis se practicó según el método colorimétrico de Tsai, Hansel y Nelson (9) modificado por Villegas y Mertz (10).

Triptofano. Para analizar este aminoácido se usó la modifica-

ción del método de Opienska-Blauth, Charezinski y Berbéc (11), propuesta por Hernández y Bates (12).

Los resultados obtenidos se sometieron luego a un análisis de varianza, el cual se complementó con la prueba de comparación múltiple de Duncan.

Peso molecular. Esta determinación se realizó aplicando el método electroforético que usa dodecil sulfato de sodio y gel de poliacrilamida (13). Las muestras para electroforesis fueron preparadas según el procedimiento de Guerra y Park (14).

RESULTADOS Y DISCUSION

Fraccionamiento de las Proteínas

Los resultados del fraccionamiento proteínico de las semillas de los maíces sometidos a estudio se muestran en la Tabla 1. Los valores presentados constituyen el promedio de tres determinaciones. En los maíces con endospermo normal analizados, el fraccionamiento indicó una composición proteínica similar, exceptuando la fracción que comprende las albúminas, globulinas y el nitrógeno no proteínico, fracción que se encuentra en cantidades que no difieren significativamente entre sí en los maíces Arichuna y Obregón, donde alcanza valores de 16.70% y 16.68% respectivamente. En cambio, en la variedad Venezuela-1 su contenido es menor, puesto que no llega a 15%.

Los granos de maíz Opaco-2 presentan una composición muy diferente a los granos de maíz con endospermo normal, ya que acusan un bajo contenido de zeína (9.38%) y alto de AIG (45.91%) y de albúminas-globulinas (32.81%). Según se observa en el gen Opaco-2 el nivel de zeína disminuye notablemente y, en forma menos notoria, asciende el contenido de las fracciones albúminas-globulinas y AIG. Estos hallazgos coinciden con los de varios investigadores, quienes señalan que el gen Opaco-2 inhibe la síntesis de las prolaminas y, aunque en menor grado, acelera la de otras fracciones (5, 15).

La principal fracción proteínica del maíz con endospermo normal es la zeína que representa alrededor del 37% de la proteína total del grano, mientras que en el maíz Opaco-2 la fracción más abundante es la AIG, que aporta 45.91%.

El maíz Opaco-2 analizado presentó casi el doble de la

TABLA 1

CONTENIDO DE PROTEINA Y DISTRIBUCION PROTEINICA DE
LOS GRANOS DE MAICES VENEZUELA-1, ARICHUNA, OBREGON
Y VENEZUELA-1 OPACO-2
(Expresado en g/100 g)

Fracción proteínica	Venezuela-1	Arichuna	Obregón	Venezuela-1 Opaco-2
Albúminas, globulinas y nitrógeno proteínico	14.71	16.70	16.68	32.81
Zeína	38.04	37.18	36.90	9.38
ASG	17.48	16.62	17.35	11.90
AIG	29.77	29.50	29.07	45.91
Proteína	10.76	10.44	10.71	10.18
Humedad	7.52	10.99	10.55	11.05

fracción albúminas-globulinas que el maíz normal. Puede ser que, en parte, el aumento de esta fracción se deba a que el Opaco-2 tiene un germen de mayor tamaño y, en general, este último es rico en dichos compuestos.

En lo referente a las ASG, cabe destacar que aun cuando el contenido de esta fracción no difiere mucho entre los maíces estudiados, es menor en el opaco que en el normal si se relaciona con el contenido total de glutelinas (ASG + AIG). En el caso del maíz Opaco las ASG representan el 20.58% de las glutelinas totales, mientras que en el maíz con endospermo normal esta fracción oscila entre 36.04% y 37.38%.

CARACTERIZACION DE LAS FRACCIONES PROTEINICAS

Lisina Disponible

Los datos referentes al contenido de este aminoácido se indican en la Tabla 2. Los valores señalados corresponden al promedio de seis y ocho determinaciones.

Los valores resultantes revelan que las fracciones globulinas, albúminas y AIG son ricas en lisina (contienen más del 40%),

TABLA 2

**CONTENIDO DE LISINA DISPONIBLE EN LAS FRACCIONES
PROTEINICAS DE LOS GRANOS DE MAICES VENEZUELA-1,
ARICHUNA, OBREGON Y VENEZUELA-1 OPACO-2
(g/100 g proteína)**

Fracción proteínica	Venezuela-1	Arichuna	Obregón	Venezuela-1 Opaco-2
Globulinas	6.22 ^{a*}	5.60 ^b	4.39 ^d	5.06 ^c
Albúminas	6.71 ^c	7.88 ^b	8.52 ^a	7.97 ^b
Zeína	0.33 ^a	0.52 ^b	0.39 ^c	0.66 ^a
ASG	1.20 ^a	0.96 ^{b, C}	0.81 ^{d, C}	0.84 ^{d, b}
AIG	6.53 ^{a, B}	6.18 ^{a, c}	5.36 ^d	6.11 ^{B, c}

- * Los promedios en la misma línea identificados con letras minúsculas comunes, no alcanzan diferencias significativas entre sí.
Los promedios identificados con letras mayúsculas comunes, no alcanzan diferencias significativas entre sí al 1%, pero sí al 5%.
Los promedios exentos de letras comunes (mayúsculas o minúsculas), alcanzan diferencias significativas entre sí al 1%.

siendo este aminoácido más abundante en las albúminas, ya que constituye más del 6.5% de la proteína. En contraste, las fracciones zeína y ASG son deficientes en lisina, pues contienen aproximadamente 1% y, según la FAO (16), una proteína ideal debe contener 4.2 g de lisina/100 g de proteína.

También es importante comentar que se constataron variaciones significativas en el contenido de lisina disponible de los cuatro maíces, siendo la concentración de este aminoácido menor en las fracciones globulinas y AIG del híbrido Obregón.

Triptofano

Los resultados en cuanto al contenido de triptofano se consiguen en la Tabla 3. Los valores indicados son el promedio de seis y ocho determinaciones.

Al comparar los datos correspondientes al contenido de triptofano con el valor fijado en 1973 por la FAO (1.0 g triptofano/100 g de proteína), se aprecia que las fracciones zeína y ASG

TABLA 3

CONTENIDO DE TRIPTOFANO EN LAS FRACCIONES PROTEINICAS
DE LOS GRANOS DE MAICES VENEZUELA-1, ARICHUNA,
OBREGON Y VENEZUELA-1 OPACO-2

Fracción proteínica	Venezuela-1	Arichuna	Obregón	Venezuela-1 Opaco-2
Globulinas	1.49 ^{a*}	1.26 ^b	1.29 ^b	1.25 ^b
Albúminas	1.60 ^a	1.66 ^a	1.44 ^b	1.59 ^a
Zeína	0.004 ^b	0.01 ^b	0.004 ^b	0.02 ^a
ASG	0.16 ^b	0.14 ^b	0.15 ^b	0.53 ^a
AIG	0.64 ^c	0.74 ^b	0.77 ^b	1.08 ^a

* Los promedios en la misma línea identificados con letras minúsculas no alcanzan diferencias significativas entre sí.
Los promedios exentos de letras comunes alcanzan diferencias significativas entre sí al 1^oo.

son pobres en este aminoácido, pues contienen menos de 0.55^oo. En cambio, las otras fracciones presentan cantidades apreciables de este compuesto, ya que tienen más de 1^oo siendo en las albúminas donde es más abundante, presentando alrededor del 1.5^oo de la proteína total.

Es de interés destacar que las fracciones ASG y AIG del Opaco-2 presentan mayor cantidad de triptofano que las del normal. También debe destacarse que no se encontraron variaciones significativas en el contenido de este aminoácido en las fracciones proteínicas de los maíces con endospermo normal Arichuna y Obregón, con excepción de las albúminas. En estas últimas, los valores de triptofano alcanzaron diferencias al nivel del 1^oo, según lo reveló la prueba de Duncan.

Los resultados de los análisis de los aminoácidos lisina y triptofano indican que la fracción ASG puede ser zeína que permanece insoluble en el alcohol por estar unida a las glutelinas con enlaces disulfuro, pero que al reducir estos enlaces con 2-mercaptoetanol se solubiliza.

Peso Molecular

Los pesos moleculares de los polipéptidos de las fracciones

proteínicas de los diferentes maíces se señalan en las Tablas 4, 5, 6 y 7. Los valores indicados corresponden al promedio de cuatro determinaciones.

TABLA 4

**PESO MOLECULAR PROMEDIO DE LOS POLIPEPTIDOS EN LAS
FRACCIONES PROTEINICAS DE MAIZ VENEZUELA-1**

Banda	Globulinas	Albúminas	Zeína	Glutelinas reducidas solubles en alcohol (ASG)	Glutelinas reducidas insolubles en alcohol (AIG)
1	66,000	69,500	23,000	63,800	93,000
2	55,800	63,800	20,300	44,800	86,000
3	41,250	58,800		39,000	77,500
4	37,000	54,300		23,000	69,500
5	25,800	50,000		20,300	63,800
6	22,500	42,500		17,300	60,500
7	15,600	37,000		13,000	54,300
8	13,000	24,500			41,250
9		13,000			22,500
10					14,600

Con el método electroforético en gel poliacrilamida y dodecil sulfato de sodio (PAGE-SDS) se logró una buena separación de los componentes de las fracciones, obteniéndose por lo general bandas bien definidas. Ello puede observarse en las Figuras 1-5, las que ilustran gráficamente los resultados de la separación por electroforesis de las fracciones proteínicas del maíz. Al analizar los valores obtenidos se observa que las fracciones globulinas, albúminas, ASG y AIG, son heterogéneas, estando formadas por varios componentes con un amplio rango de pesos moleculares (13,000 - 93,000). En cambio la zeína es una fracción más homogénea, ya que presenta sólo dos componentes con pesos moleculares muy próximos (20,300 - 23,000).

Las globulinas fueron separadas en forma nítida en nueve componentes con un rango de pesos moleculares que oscilaba entre 13,000 y 71,000. Esta fracción presenta cinco componentes

TABLA 5

**PESO MOLECULAR PROMEDIO DE LOS POLIPEPTIDOS EN LAS
FRACCIONES PROTEINICAS DE MAIZ ARICHUNA**

Banda	Globulinas	Albúminas	Zeína	Glutelinas reducidas solubles en alcohol (ASG)	Glutelinas reducidas insolubles en alcohol (AIG)
1	66,000	69,500	23,000	63,800	93,000
2	55,800	63,800	20,300	44,800	86,000
3	41,250	58,800		39,000	77,500
4	37,000	54,300		23,000	69,500
5	25,800	50,000		20,300	63,800
6	22,500	42,500		17,300	60,500
7	15,600	37,000		13,000	54,300
8	13,000	24,500			41,250
9		13,000			22,500
10					14,600

TABLA 6

**PESO MOLECULAR PROMEDIO DE LOS POLIPEPTIDOS EN LAS
FRACCIONES PROTEINICAS DEL MAIZ OBREGON**

Banda	Globulinas	Albúminas	Zeína	Glutelinas reducidas solubles en alcohol (ASG)	Glutelinas reducidas insolubles en alcohol (AIG)
1	66,000	75,300	23,000	63,800	93,000
2	55,800	69,500	20,300	44,800	86,000
3	41,250	63,800		39,000	77,500
4	37,000	58,800		23,000	69,500
5	25,800	54,300		20,300	63,800
6	22,500	50,000		17,300	60,500
7	15,600	42,500		13,000	54,300
8	13,000	37,000			41,250
9		24,500			22,500
10		13,000			14,600

TABLA 7

**PESO MOLECULAR PROMEDIO DE LOS POLIPEPTIDOS EN LAS
FRACCIONES PROTEINICAS DEL MAIZ VENEZUELA-1 OPACO-2**

Banda	Globulinas	Albúminas	Zeína	Glutelinas reducidas solubles en alcohol (ASG)	Glutelinas reducidas insolubles en alcohol (AIG)
1	71,000	80,000	20,300	63,800	93,000
2	66,000	75,300		44,800	77,500
3	55,800	69,500		39,000	69,500
4	41,250	63,800		23,000	63,800
5	37,000	58,800		20,300	60,500
6	25,800	54,300		17,300	54,300
7	22,500	50,000		13,000	41,250
8	15,600	42,500			
9	13,000	37,000			
10		33,000			
11		24,500			
12		13,000			

principales, de bandas intensas [2, 3, 4, 6, 7] y cuatro menores, de bandas tenues [1, 5, 8, 9] como se observa en la Figura 2. Las globulinas de los cuatro tipos de maíces no difieren entre sí, excepto por la banda 1 de peso molecular 71,000, la cual no aparece en los maíces con endospermo normal. Puede ser que ello se deba a variaciones cuantitativas de los polipéptidos en las fracciones.

Las albúminas constituyen una fracción altamente compleja; están formadas por 12 componentes de pesos moleculares marcadamente diferentes, con un rango que fluctúa de 13,000 a 80,000, de los cuales cinco son componentes principales [bandas 3, 6, 9, 11, 12] y el resto componentes menores como se puede apreciar en la Figura 3. Las bandas 1 y 10 no se observaron en los maíces con endospermo normal, lo que se podría explicar por diferencias en la concentración de los componentes de las fracciones.

Según se destaca en la Figura 4, la zeína de los maíces con endospermo normal fue separada en dos bandas, un componente principal de banda intensa y peso molecular 20,300, y otro componente menor de banda más clara y peso molecular 23,000. En el

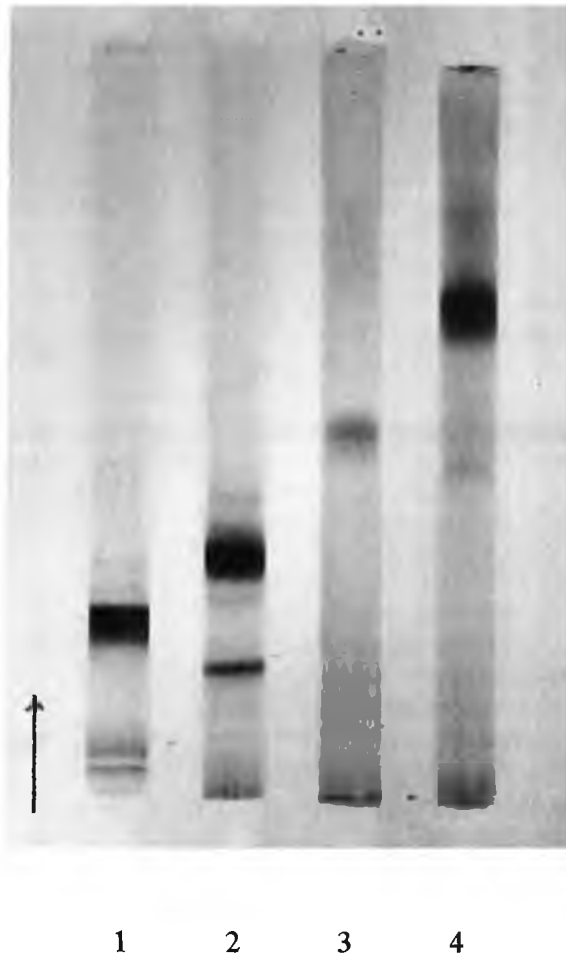


FIGURA 1

Separación por electroforesis PAGE-SDS de proteínas estándar.

1 = Lisozima (14,400)*. 2 = Tripsina (23,800). 3 = Ovoalbúmina (46,000).

4 = Albúmina (66,000).

*** Peso molecular expresado en daltones.**

**FIGURA 2**

Separación por electroforesis PAGE-SDS de los polipéptidos de la fracción globulina de los maíces: 1 = Venezuela-1.

2 = Arichuna. 3 = Obrégón. 4 = Opaco-2 V-1



1 2 3 4

FIGURA 3

Separación por electroforesis PAGE-SDS de los polipéptidos de la fracción albúmina de los maíces: 1= Venezuela-1. 2= Arichuna. 3= Obregón. 4= Opaco-2 V-1



FIGURA 4

Separación por electroforesis PAGE-SDS de los polipéptidos de la fracción zeína de los maíces: 1= Venezuela-1. 2= Arichuna. 3= Obregón. 4= Opaco-2 V-1

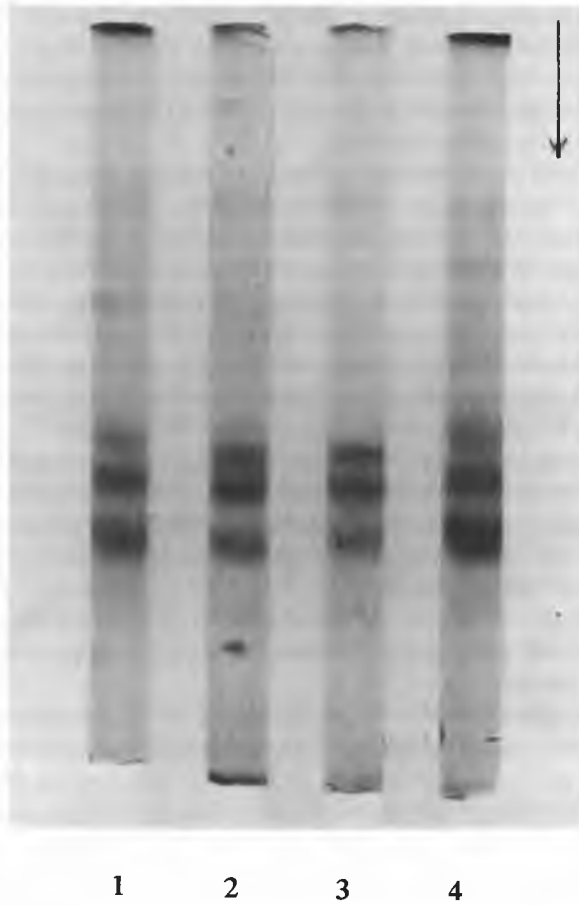


FIGURA 5

Separación por electroforesis PAGE-SDS de los polipéptidos de la fracción ASG de los maíces: 1 = Venezuela-1. 2 = Arichuna. 3 = Obregón. 4 = Opaco-2 V-1

Opaco figura sólo el componente principal y la banda 1 está ausente o bien es deficiente en ese maíz. Paulis, Bietz y Wall (3) observaron para esta fracción, una sola banda de peso molecular 21,300, porque para la electroforesis (PAGE-SDS) usaron una concentración de 5% de poliacrilamida.

Los ASG están constituidos por siete bandas con pesos moleculares que varían entre 13,000 y 63,800. Los componentes principales de esta fracción están representados por las bandas 4, 5 y 6, de las cuales, la 4 y 6 difieren en intensidad entre los maíces analizados. Así, por ejemplo, la banda 4 es más intensa en los maíces normales que en el Opaco, y con la banda 6 ocurre lo contrario, es decir, es más intensa en el maíz Opaco que en los maíces normales (Figura 5). Estos resultados revelan que dicha fracción puede ser zeína ligeramente contaminada con otras fracciones.

Los componentes de la fracción AIG no se separaron claramente como en las fracciones anteriores, pero sí se pudieron observar 10 bandas con pesos moleculares de 14,000 a 93,000. La fracción AIG está compuesta principalmente por polipéptidos representados por las bandas 2, 4, 6, 8 y 9 de las cuales la 2, 9 y 10 no son visibles en el Opaco. Al igual que en el caso de las fracciones anteriores, esto podría explicarse por variaciones en las intensidades de las bandas.

La comparación de los polipéptidos de las diversas fracciones de los maíces en estudio reveló pequeñas diferencias en el número y en la intensidad de las bandas de las fracciones proteínicas. Estos hallazgos son comparables a los obtenidos por Paulis, Bietz y Wall (3) quienes encontraron diferencias sólo en la intensidad de algunas bandas al comparar los polipéptidos de las fracciones proteínicas del maíz normal con el Opaco-2 y Harinoso-2.

Los valores encontrados para el peso molecular de los polipéptidos de las fracciones proteínicas de los maíces analizados difieren de los obtenidos por otros autores en sus investigaciones sobre este mismo cereal (3, 4, 7). Estas variaciones pueden deberse a las diferencias genéticas y a los distintos efectos ambientales existentes entre los maíces estudiados, así como al hecho de que en este trabajo, a pesar de usar el mismo método PAGE-SDS que dichos autores, se emplea un procedimiento distinto (14).

SUMMARY

CHARACTERIZATION OF THE CORN PROTEINS OF THE CULTIVARS VENEZUELA-1, ARICHUNA, OBREGON AND VENEZUELA-1 OPAQUE-2

A study is presented on the protein composition of the Venezuelan corn cultivars Venezuela-1, Arichuna, Obregón and Venezuela-1 Opaque-2. The proteins were isolated and analyzed for their molecular weight and lysine and tryptophan content. Protein fractionation showed significant differences between normal corn cultivars and Opaque-2. The latter showed a low level of zein and a high content of alcohol-insoluble reduced glutelins (AIG), albumins and globulins in relation to the normal kernel. The relative increase of these protein fractions, rich in lysine and tryptophan, results in a higher concentration of these amino acids in the Opaque kernel, as revealed by the analysis of these compounds carried out in different cultivars.

Electrophoretic analysis showed only small differences in the number and intensity of bands from the protein fractions of the maize cultivars under study.

BIBLIOGRAFIA

1. Bressani, R. & E. Mertz. Studies on corn proteins. IV. Protein and amino acid content of different corn varieties. *Cereal Chem.*, **35**: 227-235, 1958.
2. Baudet, J., J. Mossé, J. Landry & T. Moureaux. Etude sur les protéines du maïs. *Ann. Physiol. Veg.*, **8**: 321-329, 1966.
3. Paulis, J., J. Bietz & J. Wall. Corn protein subunits: Molecular weights determined by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Agr. Food Chem.*, **23**: 197-201, 1975.
4. Paulis, J. & J. Wall. Comparison of the protein compositions of selected corns and their wild relatives, teosinte and tripsacum. *J. Agr. Food Chem.*, **25**: 265-270, 1977.
5. Sodek, L. & C. Wilson. Amino acid composition of proteins isolated from normal, opaque-2, floury-2 endosperms by a modified Osborne procedure. *J. Agr. Food Chem.*, **19**: 1144-1150, 1971.
6. Misra, P., E. Mertz & D. Glover. Studies on corn proteins. IX. Comparison of the amino acid composition of Landry-Moureaux and Paulis Wall endosperm fractions. *Cereal Chem.*, **53**: 669-704, 1976.
7. Misra, P., E. Mertz & D. Glover. Studies on corn proteins. X. Polypeptide molecular-weight distribution in Landry-Moureaux fractions of normal and mutant endosperm. *Cereal Chem.*, **53**: 705-711, 1976.

8. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of the AOAC**. 12th ed. Washington, D.C., The Association, 1975.
9. Tsai, C., L. Hansel & O. Nelson. A colorimetric method of screening maize seeds for lysine content. **Cereal Chem.**, **49**: 572-579, 1972.
10. Villegas, E. & E. Mertz. Chemical screening methods for maize protein quality at CIMMYT. **Research Bull.**, **20**: 1-14, 1971.
11. Opienska - Blauth., M. Charezinski & H. Berbé. A new, rapid method of determining tryptophan. **Anal. Biochem.**, **6**: 69-76, 1963.
12. Hernández, H. & L. Bates. A modified method for rapid tryptophan analysis of maize. CIMMYT. **Research Bull.**, **13**: 1-4, 1969.
13. Weber, K. & M. Osborn. The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. **J. Biol. Chem.**, **24**: 4406-4412, 1969.
14. Guerra, M. & Y. Park. Extraction of sesame seed protein and determination of its molecular weight by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. **J. Am. Oil. Chem. Soc.**, **52**: 73-75, 1975.
15. Misra, P., E. Mertz & D. Gover. Studies on corn proteins. VI. Endosperm protein changes in single and double endosperm mutants of maize. **Cereal Chem.**, **52**: 161-166, 1975.
16. **Necesidades de Energía y de Proteínas**. Informe de un Comité Mixto FAO/OMS de Expertos. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 1973. (Serie de Informes Técnicos de la OMS, No. 522 e Informes de Reuniones sobre Nutrición de la FAO No. 52).