

## CONTENIDO EN CISTINA Y TIROSINA DE ALGUNOS ALIMENTOS MEXICANOS

Por

RAQUEL GRIMALDO

MARIA DE LA LUZ SUAREZ SOTO\*\*

GUILLERMO MASSIEU H.\*\*

RENE O. CRAVIOTO

Del Instituto Nacional de Nutriología

Colaboración especial para los Anales

del Instituto de Biología

En varios trabajos anteriores (3, 5, 8, 9, 11, 15, 21, 22) se investigó el contenido en aminoácidos indispensables en cerca de setenta alimentos mexicanos. Algunos de los datos obtenidos han contribuido al conocimiento de las bondades y deficiencias de las proteínas de las dietas que consumen ciertos grupos económicamente débiles en México (2, 4, 12, 13, 14). Se han encontrado asimismo fuentes potenciales de aminoácidos indispensables que pueden tomarse en cuenta en los programas de mejoramiento de la dieta de esos grupos. No obstante, no se tenían datos sobre el contenido en cistina y tirosina de la casi totalidad de los alimentos estudiados, aminoácidos que se consideran semi-indispensables y cuyo nivel es necesario conocer en las proteínas, si se desea estimar correctamente su valor biológico teórico aplicando el criterio de Mitchell y Block (18). Rose y Wixom (19, 20) han comprobado además que la cistina y tirosina hacen disminuir hasta en un 80% los requerimientos de metionina y fenilalanina respectivamente, en el caso del hombre adulto, cuando se encuentran a cierto nivel en la dieta. De lo anterior se infiere la importancia que tiene el conocimiento de las cantidades que de tales aminoácidos se ingieren en las dietas y por consiguiente el de su contenido en los alimentos que las constituyen.

El propósito de este trabajo fue por lo tanto conocer el conte-

\*\* Dirección actual: Departamento de Bioquímica, Instituto de Biología.

nido en cistina y tirosina de los alimentos mexicanos que ya se habían analizado con anterioridad respecto a su composición en aminoácidos indispensables, para completar así los datos sobre la calidad de sus proteínas. Se consigna el análisis de 57 muestras, que constituyen la mayor parte de las estudiadas hasta ahora.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Muestras

Las muestras de origen vegetal analizadas fueron las siguientes: acelgas (*Beta vulgaris*), semilla de ajonjolí (*Sesamum orientale* L.), alegría (*Amarantus paniculatus* var. *leucocarpus*), almendras de capulín (*Prunus capuli* Cav.), almendras de marañón (*Anacardium occidentale* L.), alubias (*Phaseolus vulgaris* L.), alverjón (*Pisum sativum* L.), arroz (*Oryza sativa* L.), berros (*Nasturtium aquaticum* (L.) (Br.)), cacahuates (*Arachis hipogaea* L.), semilla de calabaza (*Cucurbita pepo* L.), chiles jalapeños (*Capsicum annum* var. *grossum*), chiles poblanos (*Capsicum annum* var. *grossum*), espinacas (*Spinacia oleracea* L.), frijoles de árbol (*Cajanus indicus* Spreng.), frijoles negros (*Phaseolus vulgaris* L.), garbanzo (*Cicer arietinum* L.), semillas secas de guaje (*Leucaena esculenta*), haba seca (*Vicia faba* L.), huaunzontles (*Chenopodium nuttalliae* Saff.), lenteja (*Ervum lens* L.), maíz (*Zea mays* L.), malva (*Malva* sp.), nopales (*Opuntia* sp.), parota (*Enterolobium cyclocarpum* Griseb.), pataste (*Theobroma bicolor*, Humb. et Bonp.), "pinole", piñones (*Pinus edulis* Engelm. *P. cembroides*), romeros (*Dondia* sp.), soja (*Glicina soja* Sieb. et Zucc.) y tortilla de maíz.

Las muestras de origen animal analizadas fueron las siguientes: acociles (*Cambarellus montezumae*), ahuahutle (huevecillos de hemípteros acuáticos de los géneros *Krizousacorixa* y *Corisella*, conocido también como "caviar mexicano"), axayacatl (larvas y adultos de varios hemípteros acuáticos de los géneros *Krizousacorixa*, *Notonecta* y *Corisella*), ajolotes (*Siredon mexicanus* Shaw.), calamares (*Loligo vulgaris*), caracoles (*Helix* sp.), carpa asada (*Carpiodes* sp.), cecina (carne de res preparada en forma especial), chapulines (*Sphenarium* sp.), chicharrón (piel de cerdo frita), charales (*Chirostoma* sp.), chorizo (preparación de carne picada, condimentada y embutida), jumiles (*Pentatomidae*), iguana (*Ctenosaura pectinata* Weigmann), pescado bagre (*Ameiurus* sp.), pescado blanco (*Chirostoma estor* Jordan), pulpos (*Octopus vulgaris*), requesón (producto obtenido

en la industria de la leche), tismiches secos (larvas de varias especies de crustáceos, procedentes del Papaloapan).

La descripción de las muestras y la manera de prepararlas para el consumo está consignada en trabajos anteriores (21, 22).

#### *Preparación de las muestras para su análisis.*

Las muestras se prepararon en la misma forma que se ha descrito en trabajos anteriores (21, 22).

#### *Métodos de análisis*

Para la determinación de cistina se procedió a hidrolizar las muestras siguiendo el método de Miller *et al.* (17): en un matraz Erlenmeyer se pesó 1 g. de la muestra preparada, se agregaron 25 ml. de HCl 4N y se hidrolizó en autoclave durante 1 hora a 15 libras de presión. El tiempo de hidrólisis se seleccionó después de haber determinado el contenido en cistina en varias muestras que se hidrolizaron usando diferentes tiempos, desde 1/2 hora hasta 8 horas y se encontró que con 1 hora basta para liberar totalmente la cistina. Los resultados de este experimento se resumieron en la Tabla I (ver "Resultados y Discusión"). Se neutralizaron los hidrolizados frente a azul de bromotimol como indicador, se aforaron a un volumen conveniente y se filtraron para guardarse bajo una capa de tolueno en refrigerador.

Para determinar tirosina las muestras se sometieron a hidrólisis alcalina siguiendo el procedimiento de McMahan y Snell (16) como se describe a continuación: 300 mg. de la muestra preparada se introdujeron en una ampolleta de vidrio, se añadieron 5 ml. de NaOH 5N y las ampolletas se cerraron a la flama, calentándose después en el autoclave durante 10 horas a 15 libras. Posteriormente se centrifugó el hidrolizado para separar el residuo silicoso formado durante el calentamiento; se lavó repetidamente con agua caliente y el sobrenadante se neutralizó con HCl, aforándose a un volumen conveniente y después se guardó bajo una capa de tolueno en refrigerador.

Algunas muestras (almendras de capulín, almendras de marañón, y maíz) se hidrolizaron con Ba(OH)<sub>2</sub> para la determinación de tirosina, siguiendo en lo general el procedimiento de Block y Bolling (1). La necesidad de usar este método surgió cuando se observó que las determinaciones realizadas con hidrolizados obtenidos con NaOH no fueron satisfactorias, debido tal vez a la presencia

de sustancias inhibidoras para el germen de prueba, formadas durante el calentamiento en autoclave. Guinness *et al.* (6) han observado este efecto inhibitor por formación de sustancias "tóxicas", en hidrolizados con NaOH, en muestras con bajo contenido en tiro-sino (trigo, salvado, etc.) y usando como organismos a *Streptococcus faecalis* y *Lactobacillus delbrückii*.

Para llevar a cabo la hidrólisis con  $Ba(OH)_2$  se pesaron 300 mg. de muestra, se introdujeron en ampolletas de vidrio, se agregaron 2.58 g. de  $Ba(OH)_2 \cdot 8H_2O$ , cantidad necesaria para que al adicionar 5.8 ml. de  $H_2O$  destilada quede una solución al 14%. Se calentó la mezcla en autoclave a  $121^\circ C$  durante 10 horas. Se neutralizó con  $H_2SO_4$  1 N, se filtró lavando el precipitado varias veces con agua caliente. Los hidrolizados se llevaron a un volumen conveniente y se guardaron bajo tolueno en el refrigerador.

Las hidrólisis se hicieron por duplicado en todas las muestras analizadas y en el momento de la determinación se diluyeron convenientemente con agua destilada.

Tanto cistina como tirosina fueron cuantificadas por el método microbiológico de Lyman *et al.* (7) usando como organismo de prueba de *Lactobacillus arabinosus* 17-5 y *L. casei*, respectivamente, obtenidos de la American Type Culture Collection, Georgetown University School of Medicine, Washington D. C.

Para comprobar la bondad del método utilizado, en nuestras manos en el caso de cistina, se hizo una prueba de recuperación de una cantidad conocida del aminoácido agregado a una muestra de huevo completo, desecada y desengrasada. La adición de cistina se hizo antes de la hidrólisis. El porcentaje de recuperación obtenido (112%) se encontró dentro de los límites de error generalmente observados en métodos microbiológicos.

TABLA I

Valores de cistina obtenidos con diferentes tiempos de hidrólisis en distintas muestras (las cifras están dadas en por ciento de muestra desecada)

| MUESTRA           | Tiempo de hidrólisis (horas) |      |      |      |      |
|-------------------|------------------------------|------|------|------|------|
|                   | 1/2                          | 1    | 2    | 4    | 8    |
| Huevo completo    | 1.28                         | 1.89 | 1.94 | 1.64 | 1.57 |
| Huevera de iguana | 1.15                         | 2.20 | 2.28 | 1.68 | 1.28 |
| Requesón          | 1.12                         | 2.99 | 3.08 | 2.71 | 1.90 |
| Piñones           | 0.78                         | 1.22 | 1.12 | 0.75 | 0.68 |

TABLA II

Contenido en cistina y tirosina de las muestras estudiadas. Los resultados se expresan en gramos por ciento del material seco y en gramos por ciento de la proteína (N x 6.25)

| MUESTRA                   | Nitrógeno<br>g. % | Proteínas<br>g. % | Cistina          |                   | Tirosina         |                   |
|---------------------------|-------------------|-------------------|------------------|-------------------|------------------|-------------------|
|                           |                   |                   | En la<br>muestra | En la<br>proteína | En la<br>muestra | En la<br>proteína |
| <i>De origen vegetal:</i> |                   |                   |                  |                   |                  |                   |
| Acelgas                   | 3.82              | 23.87             | 0.01             | 0.04              | 0.71             | 2.96              |
| Ajonjolí, semilla+        | 7.88              | 49.25             | 1.36             | 2.76              | 1.33             | 2.70              |
| Alegría                   | 2.38              | 14.88             | 0.37             | 2.55              | 0.44             | 2.93              |
| Almendras de capulín+     | 5.80              | 36.25             | 0.62             | 1.71              | 0.85++           | 2.35              |
| Almendras de marañón+     | 5.11              | 31.94             | 0.74             | 2.31              | 0.67++           | 2.11              |
| Alubias chicas            | 4.09              | 25.56             | 0.24             | 0.96              | 0.81             | 3.18              |
| Alubias grandes           | 3.52              | 21.98             | 0.24             | 1.10              | 0.78             | 3.53              |
| Alverjón                  | 4.10              | 25.62             | 0.27             | 1.06              | 0.80             | 3.12              |
| Arroz                     | 1.19              | 7.44              | 0.15             | 2.02              | 0.22             | 2.95              |
| Berros                    | 6.48              | 40.50             | 0.25             | 0.62              | 1.61             | 3.97              |
| Cacahuates+               | 8.39              | 52.47             | 0.98             | 1.87              | 2.17             | 4.13              |
| Cacahuates (del Bajío)+   | 8.77              | 54.81             | 0.71             | 1.29              | 1.48             | 2.70              |
| Calabaza, semilla+        | 10.00             | 62.50             | 1.25             | 2.00              | 2.35             | 3.76              |
| Chiles jalapeños          | 1.88              | 11.75             | 0.24             | 2.07              | 0.37             | 3.16              |
| Chiles poblanos           | 2.29              | 14.31             | 0.18             | 1.28              | 0.29             | 2.04              |
| Espinacas                 | 4.25              | 26.56             | 0.09             | 0.32              | 0.76             | 2.87              |
| Frijoles de árbol         | 3.16              | 19.74             | 0.04             | 0.23              | 0.85             | 4.31              |
| Frijoles negros           | 4.29              | 26.81             | 0.23             | 0.94              | 1.06             | 3.95              |
| Garbanzo                  | 3.49              | 21.81             | 0.38             | 1.74              | 0.75             | 3.44              |
| Semillas secas de guaje   | 5.09              | 31.81             | 0.78             | 2.45              | 0.71             | 2.23              |
| Haba seca                 | 4.31              | 26.94             | 0.39             | 1.46              | 0.84             | 3.13              |
| Huaunzontles rojos        | 3.07              | 19.30             | 0.29             | 1.54              | 0.59             | 3.06              |
| Huaunzontles verdes       | 4.04              | 25.29             | 0.12             | 0.45              | 0.56             | 2.21              |
| Lenteja                   | 3.77              | 23.56             | 0.30             | 1.27              | 0.76             | 3.22              |
| Maíz                      | 1.44              | 9.00              | 0.19             | 2.11              | 0.33++           | 3.63              |
| Malva                     | 4.32              | 27.00             | 0.16             | 0.58              | 0.97             | 3.60              |
| Nopales                   | 1.84              | 11.50             | 0.14             | 1.20              | 0.41             | 3.54              |
| Parota                    | 5.67              | 35.44             | 0.44             | 1.24              | 0.97             | 2.74              |
| Patate+                   | 5.94              | 37.12             | 1.09             | 2.94              | 2.01             | 5.40              |

+ Muestra desengrasada

++ Muestra hidrolizada con Ba(OH)<sub>2</sub>

TABLA II (Continuación)

Contenido en cistina y tirosina de las muestras estudiadas. Los resultados se expresan en gramos por ciento del material seco y en gramos por ciento de la proteína (N x 6.25)

| MUESTRA                    | Nitrógeno<br>g. % | Proteínas<br>g. % | Cistina |                  | Tirosina          |       |
|----------------------------|-------------------|-------------------|---------|------------------|-------------------|-------|
|                            |                   |                   | g. %    | En la<br>muestra | En la<br>proteína | g. %  |
| <i>De origen vegetal:</i>  |                   |                   |         |                  |                   |       |
| Pinole                     | 1.03              | 6.45              | 0.08    | 1.22             | 0.23              | 3.52  |
| Piñones+                   | 7.45              | 46.56             | 1.06    | 2.28             | 1.72              | 3.70  |
| Romeros                    | 6.64              | 41.50             | 0.45    | 1.08             | 1.03              | 2.49  |
| Soja                       | 6.05              | 37.81             | 0.74    | 1.96             | 1.09              | 2.88  |
| Tortilla                   | 1.24              | 7.75              | 0.20    | 2.61             | 0.19              | 2.63  |
| <i>De origen animal:</i>   |                   |                   |         |                  |                   |       |
| Acociles secos             | 6.17              | 38.56             | 0.73    | 1.89             | 1.57              | 4.07  |
| Ahuahutle                  | 11.35             | 70.93             | 3.29    | 4.64             | 7.87              | 11.10 |
| Ajolotes                   | 13.75             | 85.94             | 0.85    | 0.99             | 2.78              | 3.23  |
| Axayacatl                  | 8.71              | 54.44             | 0.52    | 0.95             | 2.45              | 4.50  |
| Calamares                  | 12.32             | 77.00             | 0.90    | 1.17             | 3.12              | 4.05  |
| Caracoles                  | 12.49             | 78.06             | 1.36    | 1.74             | 2.42              | 3.10  |
| Carpa asada+               | 12.67             | 78.19             | 0.80    | 1.02             | 2.40              | 3.03  |
| Cecina+                    | 11.41             | 71.31             | 0.91    | 1.28             | 3.54              | 4.97  |
| Chapulines+                | 9.06              | 56.62             | 0.54    | 0.95             | 3.21              | 5.67  |
| Charales secos             | 11.27             | 70.44             | 1.01    | 1.36             | 2.11              | 2.84  |
| Chicharrón+                | 16.00             | 100.00            | 0.14    | 0.14             | 2.12              | 2.12  |
| Chorizo+                   | 10.45             | 65.31             | 0.84    | 1.28             | 3.37              | 5.15  |
| Jumiles secos+             | 9.96              | 62.25             | 0.49    | 0.79             | 3.80              | 6.10  |
| Hígado de iguana           | 10.42             | 65.12             | 0.84    | 1.28             | 3.13              | 4.80  |
| Huevera cocida de iguana+  | 11.60             | 72.53             | 1.93    | 2.65             | 2.36              | 3.26  |
| Músculo de iguana (cola)   | 14.17             | 88.56             | 0.66    | 0.74             | 3.36              | 3.79  |
| Músculo de iguana (dorso)  | 13.73             | 85.81             | 0.76    | 0.88             | 3.93              | 4.58  |
| Músculo de iguana (patas)  | 12.70             | 78.37             | 0.94    | 1.19             | 3.31              | 4.22  |
| Pescado bagre+             | 14.01             | 87.56             | 0.87    | 0.99             | 3.19              | 3.65  |
| Pescado blanco             | 13.89             | 86.81             | 1.09    | 1.26             | 3.51              | 4.05  |
| Pulpos                     | 11.37             | 71.06             | 1.05    | 1.48             | 2.23              | 3.13  |
| Requesón+                  | 11.46             | 71.62             | 3.21    | 4.48             | 3.68              | 5.14  |
| Tismiches secos            | 10.11             | 63.22             | 0.99    | 1.58             | 1.83              | 2.89  |
| Huevo de gallina, completo | 11.76             | 73.50             | 1.67    | 2.14             | 3.23              | 4.39  |

+ Muestra desengrasada

++ Muestra hidrolizada con Ba (OH)<sub>2</sub>

Además, en cada lote de muestras analizadas se introdujo como control una muestra de huevo completo recién hidrolizada. La cifra encontrada para el huevo en cada ensayo estuvo dentro de los límites de error de las técnicas utilizadas y coincidió con las consignadas en la literatura científica. El promedio encontrado en 10 ensayos fue  $1.67 \pm 0.03$ , expresado en muestra seca y desengrasada, con un contenido de 73.5% de proteínas ( $N \times 6.25$ )

El método que se utilizó para tirosina ya había sido estudiado con anterioridad en los laboratorios en los cuales se llevó a cabo este trabajo, y las pruebas de recuperación efectuadas mostraron que el error aproximado fluctúa entre  $-0.7$  y  $+ 3.5\%$  (10).

#### RESULTADOS Y DISCUSION

En la tabla II se anotan los resultados de las determinaciones de nitrógeno y los aminoácidos cistina y tirosina, correspondientes al material seco y en algunos casos también desengrasado. Los valores de proteína se obtuvieron multiplicando los correspondientes de nitrógeno por el factor de conversión 6.25. El contenido en aminoácidos se expresa en por ciento de la muestra seca y en por ciento de la proteína.

La discusión de los resultados obtenidos se hará desde el punto de vista bioquímico propiamente dicho, comparando el contenido en cistina y tirosina de sus proteínas con el de las proteínas del huevo completo, las que Mitchell y Block (18) han considerado como las más adecuadas desde el punto de vista de la promoción del crecimiento y la retención de nitrógeno.

#### CISTINA

Entre los alimentos de origen vegetal cuyas proteínas pueden considerarse altas en su contenido en cistina, al compararlas con el de las proteínas del huevo completo (2.14%), se tienen las siguientes (Tabla II): patate (2.94%), semilla de ajonjolí (2.76%), tortilla (2.61%), alegría (2.55%), semillas secas de guaje (2.45%), almendra de marañón (2.31%) y piñones (2.28%).

Entre los alimentos de origen animal cuyas proteínas contienen una cifra mayor que la que poseen las del huevo completo se tienen: ahuahutle (4.64%), requesón (4.48%) y huevera de iguana (2.65%).

La presencia en las proteínas del requesón de una cantidad tan elevada de cistina puede deberse a que estén formadas principal-

mente de lactalbúmina, en la cual ya se ha consignado una alta proporción de este aminoácido (1). Esta hipótesis se confirma, hasta cierto punto, por el hecho de que estas proteínas contienen asimismo alto nivel de triptofano (22).

Llama la atención el alto contenido en cistina de las proteínas del ahuahutle, que parecen ser de las más ricas en este aminoácido en el reino animal, entre las estudiadas hasta el momento.

#### TIROSINA

Como puede observarse en la Tabla II, los alimentos de origen vegetal estudiados en este trabajo, cuyas proteínas tienen un contenido en tirosina comparable al de las proteínas del huevo completo (4.39%), son los siguientes: patate (5.40%), frijoles de árbol (4.31%), cacahuates (4.13%), berros (3.97%), frijoles negros (3.95%).

Los alimentos de origen animal cuyas proteínas pueden considerarse altas en tirosina son los siguientes: jumiles (6.10%), chapulines (5.67%), chorizo (5.15%), requesón (5.14%), cecina (4.97%), hígado de iguana (4.80%), músculo de iguana (4.22-4.58%) acociles (4.07%), pescado blanco (4.05%), calamares (4.05%).

Los valores de tirosina de las proteínas del ahuahutle (11.10%), y del axayacatl (4.50%) fueron tomados de un trabajo realizado con anterioridad (10).

De lo anterior puede concluirse que existen algunos alimentos de origen vegetal cuyas proteínas tienen un contenido en tirosina tan alto como algunos de origen animal. Sin embargo, estos últimos proporcionan en general más tirosina que los primeros, ya que contienen mayor cantidad de proteínas.

#### RESUMEN

Se determinó, por métodos microbiológicos, el contenido en cistina y tirosina de las siguientes muestras de alimentos: acelga, semilla de ajonjolí, alegría, almendra de capulín, almendra de marañón, alubias, alverjón, arroz, berros, cacahuates, semilla de calabaza, chile jalapeño, chile poblano, espinaca, frijoles de árbol, frijoles negros, garbanzo, semillas secas de guaje, haba seca, huaunzontles, lenteja, parota, patate, pinole, piñones, romeros, soja, tortilla, acociles secos, ahuahutle, axayacatl, ajolotes, calamares, caracoles, carpa asada, cecina, chapulines, charales, chicharrón, chorizo, jumiles, iguana, pescado bagre, pescado blanco, pulpos, requesón y tis-miches secos. Con fines de control y de comparación se llevaron a cabo las mismas determinaciones en huevo completo.

Al comparar la composición en cistina de las proteínas de los alimentos estudiados, con las del huevo completo, se encontró que las que tuvieron una cantidad superior o cercana a éstas fueron las del ahuate, requesón, patate, semilla de ajonjolí, huevera de iguana, tortilla, alegría, semillas de guaje, almendra de marañón y piñones. El mayor contenido en tirosina, comparando también con las proteínas del huevo, lo presentaron, en general, los alimentos de origen animal, tales como jumiles, chapulines, chorizo, requesón, cecina, iguana, pescado blanco, calamares y pescado bagre. Algunas muestras de origen vegetal resultaron también con un contenido alto en este aminoácido.

## SUMMARY

The cystine and tyrosine content of 58 samples of foodstuffs used in Mexico were determined by microbiological methods. All the foodstuffs studied have been analyzed before regarding their essential amino acid content. The value of the foodstuffs as source of cystine and tyrosine is also discussed.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. BLOCK, R. J. y D. BOLLING. The amino acid composition of proteins and foods, Ch. C. Thomas Pub., Springfield, Ill., 1951.
2. CRAVIOTO, O. Y., F. DE M. FIGUEROA, CRAVIOTO R. O. y MASSIEU G. H. Estudios sobre proteínas y aminoácidos en dietas mexicanas. I.—Valor biológico de dietas a base de frijol y tortilla y su valoración por el método de la regeneración de la proteína del hígado en la rata, *Ciencia (Méx.)*, XIII: 65, 1953.
3. CRAVIOTO, R. O., G. MASSIEU H. y GUZMÁN G. J. Investigaciones bromatológicas en alimentos mexicanos, *Bol. Of. Sanit. Panamer.*, XXXVIII: 26, 1955.
4. ———, El problema de las proteínas en la dieta mexicana, *Ibid.*, pág. 148, 1955.
5. CRAVIOTO, R. O., CRAVIOTO O. Y., MASSIEU G. H. y GUZMÁN G. J. "El pozol", forma indígena de consumir el maíz en el sureste de México y su aporte de nutrientes a la dieta, *Ciencia (Méx.)*, XV: 27, 1955.
6. GUNNESS, M., I. M. DWYER, y J. L. STORES, Microbiological methods for the determination of amino acids. III. Extension of the uniform assay method for the ten essential amino acids to include tyrosine, *J. Biol. Chem.*, CLXIII: 159, 1946.
7. LYMAN, C. M., O. MOSELEY, S. WOOD y F. HALE. Note on the use of hydrogen peroxide-treated peptone in media for the microbiological determination of amino acids, *Arch. Biochem.*, X: 427, 1946.
8. MASSIEU, H. G., J. GUZMÁN, R. O. CRAVIOTO y J. CALVO DE LA T. Determination of some essential amino acids in several uncooked and cooked Mexican foodstuffs, *J. Nutrition*, XXXVIII: 293, 1949.
9. ———, Contenido en aminoácidos indispensables en algunas semillas mexicanas, *Ciencia (Méx.)*, X: 142, 1950.

10. MASSIEU, H. G., Y. TRIGO M., R. O. CRAVIOTO y J. CALVO DE LA T. Sobre la aplicación del método de Thomas a la dosificación de tirosina en algunos alimentos mexicanos, *Ciencia e Investigación (Argentina)*, VI: 424, 1950.
11. MASSIEU, H. G., J. GUZMÁN G., R. O. CRAVIOTO y J. CALVO DE LA T. Nutritive value of some primitive Mexican foods, *J. Am. Dietet. Assoc.*, XXVII: 212, 1951.
12. MASSIEU, H. G., J. GUZMÁN G. y R. O. CRAVIOTO. Consideraciones sobre la dieta rural mexicana, *Ciencia (Méx.)*, XIII: 129, 1953.
13. MASSIEU, H. G., O. Y. CRAVIOTO, R. O. CRAVIOTO y F. DE M. FIGUEROA. Estudios sobre proteínas y aminoácidos en dietas mexicanas II. Eficiencia sobre el crecimiento de la rata blanca de las proteínas de dietas a base de tortilla y frijol, usuales entre la población indígena de Boxaxni, Valle de Mezquital, *Ibid.*, pág. 199, 1954.
14. ———, III. Eficiencia proteica de dietas a base de tortillas, suplementadas con frijol, garbanzo o leche, medida por el método del crecimiento de la rata blanca, *Ibid.*, XIV: 93, 1954.
15. MASSIEU, H. G., O. Y. CRAVIOTO, R. O. CRAVIOTO, J. GUZMÁN G. y M., DE L. SUÁREZ SOTO. Nuevos datos acerca del efecto del maíz y la tortilla sobre el crecimiento de ratas alimentadas con dietas bajas en triptofano y niacina, *Ibid.*, XVI: 24, 1956.
16. MC MAHAN, R. J. y E. E. SNELL. The microbiological determination of amino acids. I. Valine and arginine, *J. Biol. Chem.*, CLII: 83, 1944.
17. MILLER, B. S., J. Y. SEIFFE, J. A. SHELENBERGER y G. D. MILLER. Amino acid content of various wheat varieties, *Cereal Chem.*, XXVI: 96, 1950.
18. MITCHELL, H. H. y R. J. BLOCK. Some relationships between the amino acid content of proteins and their nutritive value for the rat, *J. Biol. Chem.*, CLXIII: 559, 1946.
19. ROSE, W. C. y R. L. WIXOM. The amino acid requirements of man. XIII. The sparing effect of cystine on the methionine requirement, *Ibid.*, CCXVI: 763, 1955.
20. ———, XIV. The sparing effect of tyrosine on the phenylalanine requirement, *Ibid.*, CCXVII: 95, 1955.
21. SUÁREZ, M. L., G. MASSIEU H., R. O. CRAVIOTO y J. GUZMÁN G. Nuevos datos sobre el contenido en aminoácidos indispensables en alimentos mexicanos, *Ciencia (Méx.)*, XIV: 19, 1954.
22. VILLADELMAR, M. L., M. L. SUÁREZ, G. MASSIEU H., J. GUZMÁN G. y R. O. CRAVIOTO. Determinación de aminoácidos indispensables en 24 alimentos mexicanos, *Ibid.*, XVI: 17, 1956.