

## *Evaluación de la calidad de las proteínas de una leche para uso infantil*

Por los Dres.:

Por JHON GAY,<sup>(\*)</sup> LUISA ALVAREZ,<sup>(\*\*)</sup>  
GISELA MARTÍNEZ<sup>(\*\*\*)</sup> Y JOSEFINA MENDOZA<sup>(\*\*\*)</sup>

En la alimentación infantil se utiliza una serie de productos con características específicas para ese grupo de edad. Aunque las prácticas alimentarias han venido evolucionando lentamente a través de los siglos, y *Jelliffe*<sup>19</sup> nos proporciona una interesante descripción del tema, es en las últimas décadas cuando han ocurrido los cambios e innovaciones de mayor trascendencia debido al desarrollo y perfeccionamiento de la industria alimenticia. La leche, alimento fundamental del niño pequeño, se ha visto sometida como ningún otro a diversos procesos de elaboración más o menos complejos. En todo momento ha sido interés lógico de pediatras, nutriólogos e higienistas estudiar y comprobar las posibles alteraciones que tales procedimientos tecnológicos pudieran ejercer sobre el crecimiento y el desarrollo del niño. Ese interés se explica más aún si tenemos en cuenta que durante sus primeros meses de vida el

niño tiene en la leche su principal — y a veces única fuente de nutrientes, no practicando todavía el elemental principio dietético de la variedad en la alimentación.

Recientemente se ha presentado en nuestro medio la necesidad de evaluar el valor nutricional de una leche para uso infantil, al proponerse una modificación en la elaboración de la misma. El cambio sugerido en el proceso tecnológico tiene como propósito aumentar el rendimiento por unidad de tiempo en la elaboración de la leche entera acidificada en polvo (sucedáneo del Pelargón) y consiste fundamentalmente en un aumento en la temperatura de desecación. En la tabla No. 1 se resumen los cambios propuestos. Teniendo en cuenta que esta variedad de leche en polvo se utiliza específicamente en la alimentación infantil, se entiende que sólo pueda aceptarse tal modificación después de haberse comprobado rigurosamente que no altera su valor nutricional.

La evaluación nutricional de ese producto la hemos hecho en base a aquellos nutrientes de los cuales la leche constituye fuente importante y que pudieran ser susceptibles de alteración —proteínas, vitamina A, riboflavina—.

(\*) Jefe de la Sección de Nutrición, Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología, Infanta y Cruceiro Ferrocarril, Habana, Cuba.

(\*\*) Responsable de Estadísticas Vitales del Departamento de Estadísticas, Ministerio de Salud Pública, Habana, Cuba.

(\*\*\*) Profesional técnico de Química, Sección de Nutrición, Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología, Habana, Cuba.

Otros laboratorios han determinado comparativamente en ambas muestras la acidez, la solubilidad, y los contenidos de grasa, lactosa, proteínas, sales minerales y lecitina, hallando una gran similitud. (\*)

El objetivo del estudio que a continuación presentamos es determinar experimentalmente si la modificación propuesta produce alguna alteración en la calidad de las proteínas de la leche entera acidificada en polvo.

En una monografía de FAO, *Kcn*<sup>11</sup> señala que "los métodos de deshidratación de leche causan cierta desnaturación proteica, lo que supone cambios de solubilidad, pero parece que tales efectos no tienen repercusión en su valor nutritivo." También apunta que el proceso de pasteurización hace disminuir sólo ligeramente su valor biológico. Sin embargo, un informe de un Grupo mixto FAO/OMS de expertos<sup>8</sup> expresa que "la disponibilidad de los aminoácidos presentes en las proteínas de los alimentos puede disminuir como resultado de un tratamiento con excesivo calor", siendo "especialmente probable que se registren pérdidas durante los procesos en que se aplican fuertes cantidades de calor, como en la producción de leche en polvo. Estos estudios sobre la disponibilidad demuestran que los valores nutritivos se pueden alterar sin ningún cambio en la composición de aminoácidos determinada por los métodos químicos típicos. Por tanto, es necesario recurrir a las pruebas biológicas de la calidad de la proteína, aún cuando se conozca la composición en aminoácidos".

La utilidad práctica de evaluar la calidad proteica de un determinado ali-

mento es discutida adecuadamente por *Campbell*.<sup>7</sup> Pudiera argumentarse que, puesto que un alimento no se ingiere individualmente sino acompañado de otros, la calidad proteica a tenerse en cuenta debiera ser la del conjunto de la dieta.<sup>15</sup> Esto es cierto, y su fundamento no es otro que la acción suplementaria de los aminoácidos presentes en una mezcla de alimentos. No obstante, el conocimiento de la calidad proteica de alimentos individuales continúa siendo de la mayor importancia puesto que de esos datos se parte para llegar a computar el de las dietas mixtas. Como decíamos anteriormente, una leche para uso infantil es en muchos casos el único alimento que recibe el niño. Mientras no haya comenzado su ablactación no se habrá beneficiado del efecto de suplementación de proteínas provenientes de diversas fuentes. Es obvio que la evaluación de la calidad proteica es en tal caso cuestión de enorme importancia.

#### MÉTODOS Y MATERIALES

Para evaluar la calidad de las proteínas hemos tomado un método bioquímico y otro biológico.

El método bioquímico consiste en investigar la digestibilidad *in vitro* por acción de la tripsina, midiendo el grado de desdoblamiento de la molécula proteica por acción enzimática, mediante la determinación cuantitativa de los grupos amino libres. Se realizó la digestión enzimática siguiendo el método descrito por *Sheffner*<sup>16</sup> y a continuación se valoró los grupos amino libres según el método de *Sorensen*.<sup>9</sup>

El método biológico se basa en la determinación de la Relación de Eficiencia de la Proteína (PER). Este valor es el resultado de dividir el aumento de peso de un animal en crecimiento por su consumo de proteínas, siempre que

(\*) Comunicaciones de *Ballesta, R.*: Lab. Prov. Salud Pública Oriente Sur, 1967, y de *Granado, A.*: Dep. Ciencias Fisiológicas de la Escuela de Medicina, Univ. Oriente, 1967.

se cumplan ciertas condiciones necesarias.<sup>8</sup> La PER, utilizada extensivamente durante años, ha sido objeto de razonables críticas<sup>1</sup> y, aunque no puede considerarse como óptimo, mantiene su vigencia como el método más generalmente aplicable para evaluar la calidad proteica.<sup>7</sup> Hemos tomado como base el método de PER recomendado por AOAC,<sup>2</sup> pero con algunas modificaciones menores, por ser nuestro estudio comparativo entre dos variantes de un tipo de leche. El método oficial consiste en determinar la calidad proteica en relación a una proteína patrón de referencia (caseína) y utiliza una dieta sintética. Pero nosotros, que nos interesa comparar las variantes tecnológicas entre sí, hemos utilizado dietas que tienen la leche como única fuente de proteínas.

Los ingredientes de ambas dietas fueron leche entera acidificada en polvo, aceite de girasol, mezcla de sales USP XVI, vitamina E y celulosa. Se revisó en el laboratorio la presencia indeseable de impurezas en los ingredientes, con resultados prácticamente nulos. La composición de las dietas se expone en la tabla No. 2, habiéndose determinado proteína por Kjeldahl ( $N \times 6.25$ ),<sup>14</sup> grasa según la técnica de Rose y Gottlieb modificada por Mojonier,<sup>12</sup> ceniza, fibra y humedad de acuerdo con AOAC.<sup>3,5</sup> Denominaremos dieta A a la preparada con la variante tecnológica actual y dieta B a la preparada con la variante propuesta.

Los animales utilizados fueron nueve ratas albinas recién destetadas para cada dieta, procedentes de nuestra colonia nutricionalmente estandarizada por varias generaciones. La prole fue repartida en ambos grupos y se hizo una distribución lo más equitativa posible en cuanto al peso corporal. Cumplimentando lo especificado en AOAC, todas las ratas eran machos, en iguales

condiciones ambientales, con un desarrollo normal, el promedio de peso por rata en uno y otro grupo no excedía entre sí en más de 5 g. y todas fueron destetadas a los 27 días de edad, momento en que se comenzó el experimento. Sin embargo, señalamos dos puntos del método oficial que no fue posible cumplir; cada grupo se componía de nueve ratas en lugar de diez, y el rango de peso corporal del grupo A era de 14 g. en vez de  $\approx 10$  g. Esto se tuvo en cuenta al hacer los cálculos matemáticos.

Se destetó las ratas a los 27 días de edad, comenzando entonces el estudio. Fueron colocadas en jaulas individuales de alambre con piso levantado y se les proporcionó agua y dieta *ad libitum*. Se registró el peso corporal inicial y se pesaba cada animal cada cuatro días. El consumo de comida se registraba diariamente. El período experimental duró 28 días.

## RESULTADOS

*Método bioquímico.* La digestibilidad de las variantes A y B de leche entera acidificada en polvo está representada por los siguientes valores, expresados en equivalentes de grupos amino libres por mol de nitrógeno:

|            |       |
|------------|-------|
| Variante A | 0.031 |
| Variante B | 0.028 |

*Método biológico.* Los valores individuales y los promedios de PER obtenidos con los grupos de ratas A y B se presentan en la tabla No. 3. También se incluyen en esta tabla los datos de peso corporal de cada animal al comienzo del experimento. Hemos incluido este último parámetro porque, según se había señalado previamente, existía dife-

TABLA No. 1

ALGUNOS PARAMETROS QUE CARACTERIZAN LA MODIFICACION TECNOLOGICA

|                                                     | Actual          | Propuesta       |
|-----------------------------------------------------|-----------------|-----------------|
| Aire impulsado por el <i>blower</i>                 | 5.86 lb/seg.    | 5.86 lb/seg     |
| Temp. salida del horno                              | 350°C           | 380°C           |
| Temp. entrada al equipo                             | 325-330°C       | 345-350°C       |
| Temp. de la mezcla                                  | 125°C           | 140°C           |
| Temp. del tambor                                    | 90°C            | 88°C            |
| Tiempo de contacto de la leche con el aire caliente | instant.        | instant.        |
| Consumo de petróleo.                                | 120 litros/h    | 139 litros/h    |
| Calor producido en la alimentación del equipo       | 1'243,945 BTU/h | 2'341,302 BTU/h |
| Rendimiento                                         | 215 kg/h        | 300 kg/h        |

TABLA No. 2

COMPOSICION PORCENTUAL DE LAS DIETAS PREPARADAS

|                                 | Dieta A | Dieta B |
|---------------------------------|---------|---------|
| Proteínas .....                 | 10.0    | 9.7     |
| Grasas .....                    | 12.1    | 11.2    |
| Carbohidratos asimilables ..... | 63.5    | 66.3    |
| Fibras .....                    | 2.4     | 1.7     |
| Cenizas .....                   | 4.4     | 4.2     |
| Humedad .....                   | 7.6     | 6.9     |
| Calorías/100 g. de dieta        | 403     | 405     |

TABLA No. 3

PESOS INICIALES Y VALORES DE PER EN LAS RATAS DE AMBOS GRUPOS

| No.      | Peso inicial (g) | Per   | No.      | Peso inicial (g) | Per   |
|----------|------------------|-------|----------|------------------|-------|
| A-1      | 73.0             | 3.06  | B-1      | 71.5             | 2.84  |
| A-2      | 74.5             | 2.54  | B-2      | 76.5             | 3.08  |
| A-3      | 78.0             | 2.71  | B-3      | 77.0             | 2.64  |
| A-4      | 74.0             | 2.72  | B-4      | 79.0             | 2.48  |
| A-5      | 81.0             | 2.72  | B-5      | 78.5             | 2.99  |
| A-6      | 75.0             | 3.40  | B-6      | 68.0             | 3.63  |
| A-7      | 71.0             | 3.28  | B-7      | 69.0             | 3.66  |
| A-8      | 69.0             | 3.50  | B-8      | 76.0             | 3.61  |
| A-9      | 67.0             | 3.03  | B-9      | 71.0             | 3.33  |
| Promedio | 73.61            | 2.996 | Promedio | 74.06            | 3.140 |

rencia en los rangos de variación de los pesos iniciales, siendo en el grupo A ligeramente mayor que lo aceptado en el método original. Este hecho lo hemos tomado en cuenta para la elaboración estadística realizada con el fin de comprobar nuestra hipótesis. El procedimiento matemático se detalla a continuación.

Como se había expresado, nuestra hipótesis de trabajo consiste en que la PER promedio obtenida en el grupo de animales alimentados con la dieta a base de leche según la tecnología actual (grupo A) es igual a la PER promedio obtenida en el grupo que recibió la dieta preparada a base de leche según la tecnología propuesta (grupo B), o sea, que no existe una alteración en la PER.

La verificación de esta hipótesis se ha hecho tomando en consideración el hecho de que existía una diferencia entre los rangos de pesos iniciales de uno y otro grupo. Sean X los pesos iniciales e Y los valores de PER. Sean las medias correspondientes:

$$\bar{X}_A = 73.61 \text{ g.} \quad \bar{Y}_A = 2.996$$

$$\bar{X}_B = 74.06 \text{ g.} \quad \bar{Y}_B = 3.140$$

Se ha de realizar una prueba *t*, pero, a) suponiendo para ello que los valores de PER siguen una distribución normal, b) considerando que las muestras provienen de poblaciones con igual varianza, pero tomando en consideración la posible influencia en el experimento de los pesos iniciales. Luego, la prueba a realizar es una prueba *t* pero con un estimador de la varianza igual a

$$S = S^2_{y \cdot x} \left[ \frac{1}{n_A} + \frac{1}{n_B} + \frac{(\bar{X}_B - \bar{X}_A)^2}{S_{xx}} \right] \quad (1)$$

donde

$$S^2_{y \cdot x} = \frac{\left[ S_{yy} - \frac{S^2_{xy}}{S_{xx}} \right]}{n_A + n_B - 2} \quad (2)$$

fórmula que se utiliza en el caso de existir correlación entre dos mediciones, en este caso entre peso inicial y

PER. Los valores para esta fórmula son obtenidos del siguiente cuadro de análisis de la covarianza:

| Causas de dispersión       | $S_x$  | $S_y$  | $S_{xy}$ |
|----------------------------|--------|--------|----------|
| Diferencia entre grupos .. | 1.04   | 0.0936 | 0.324    |
| Error experimental .....   | 289.61 | 2.5144 | -16.645  |
| TOTAL .....                | 290.65 | 2.6080 | -16.321  |

Sustituyendo en (2)

$$S^2_{y \cdot x} = \frac{\left[ 2.5144 - \frac{(-16.645)^2}{289.61} \right]}{16} = 0.0974$$

y sustituyendo en (1)

$$S = 0.0974 \left[ \frac{1}{9} + \frac{1}{9} + \frac{(74.06 - 73.61)^2}{289.61} \right] = 0.0217$$

Con todo ésto pretendemos eliminar la influencia que el peso inicial pudiera haber ejercido en el experimento.

Ahora utilizamos la fórmula

$$t = \frac{\bar{Y}_B - \bar{Y}_A - \frac{S_{xy}}{S_{xx}} (\bar{X}_B - \bar{X}_A)}{\sqrt{S}}$$

y considerando  $P \{ t > t_{(1-\alpha)} \} = 0.05$ , o sea, que si  $t > 1.746$  se rechazaría la hipótesis, hallamos el valor de  $t$ :

$$t = \frac{3.140 - 2.996 - \left( \frac{-16.645}{289.61} \right) (74.06 - 73.61)}{\sqrt{0.0217}} = 1.1534$$

Como se ve,  $1.1534 > 1.746$

El análisis de los datos indica que no se ha podido demostrar que haya ocurrido una disminución en el valor de PER al comparar el grupo B con el A. Sin embargo, tampoco se ha demostrado todavía la no existencia de tal disminución. En realidad, la cuestión es que debido al número de animales utilizados existe un cierto intervalo de incertidumbre, o sea, queda una zona de po-

sibles valores de disminución de PER, aunque no tienen mucha probabilidad de dar una diferencia significativa. De todos modos, para prever resultados sorpresivos eventuales, es conveniente calcular cuál sería el máximo valor de disminución de PER que podría ocurrir dentro de una confiabilidad razonable (95%).

El cálculo se basa en que

$$\frac{\bar{Y}_B - \bar{Y}_A - \frac{S_{xy}}{S_{xx}} (\bar{X}_B - \bar{X}_A) - \Delta}{\sqrt{S}} > -t_{(1-\alpha)}$$

de donde

$$\bar{Y}_B - \bar{Y}_A - \frac{S_{xy}}{S_{xx}} (\bar{X}_B - \bar{X}_A) + t_{(1-\alpha)} \cdot \sqrt{S} > \Delta$$

$$\Delta < 0.1699 + 1.746 \times 0.1473$$

$$\Delta < 0.4271$$

Podemos ahora afirmar que, si alguna disminución de PER ocurriera a causa de la modificación propuesta, ésta nunca sobrepasaría el valor 0.427, esto es, que en el peor de los casos podría ser próximo a esta cifra, pero nunca mayor que la misma.

#### DISCUSION DE RESULTADOS

Existen tablas que recogen las cifras del valor nutricional de las proteínas de los principales alimentos. Algunas de dichas tablas incluyen a la vez los datos obtenidos al evaluarlos mediante los distintos métodos biológicos y bioquímicos existentes.

Desafortunadamente no se ha logrado una correlación totalmente satisfactoria entre los resultados de los diferentes métodos empleados. Esta falta de correlación se ha encontrado todavía más marcada al someter ciertos alimentos a altas temperaturas.<sup>17</sup> No obstante, el hecho no interfiere con el presente estudio. El diseño de este experimento ha tenido un carácter comparativo entre dos variantes de una leche procesada. *Nicholls*<sup>13</sup> señala la razón de eficiencia proteica como más satisfactorio que otros métodos para evaluar el papel de las proteínas en el crecimiento del organismo. Al medir la respuesta de crecimiento de ratas jóvenes como ma-

nera de evaluar la calidad de las proteínas, no hemos pretendido determinar valores absolutos de PER para ser interpretados en un sentido universal. Lo que hemos interpretado en nuestros hallazgos no es más que una expresión de la calidad proteica al comparar dos muestras en estudio. Las medias de PER de los grupos A y B presentan una diferencia muy pequeña, solamente de 0.144. A simple vista esta magnitud es despreciable si tenemos en cuenta el rango de los valores de PER en la tabla mostrada por *Nicholls*<sup>13</sup> donde oscila entre 0.9 para la levadura y 3.8 para el huevo entero. El rango todavía se ampliaría más si tomáramos para el huevo entero la PER citada por *Bender*<sup>6</sup> de alrededor de 4.4.

El análisis estadístico de los resultados nos permite considerar que cualquier alteración que se hubiera experimentado sería insignificante, aun en la eventualidad de que ocurriera el máximo valor posible. Desde luego, lo que hemos evaluado es la calidad de conjunto de las proteínas de la leche—caseína, lactoalbúmina y lactoglobulinas—y no la de una de ellas en particular. Tal evaluación tiene un sentido más práctico, más aplicativo, porque en realidad lo que el niño toma es leche, no caseína u otra proteína aislada. Los ali-

mentos naturales contienen proteínas con diversas combinaciones de aminoácidos. Es bien conocido que estas proteínas ejercen entre sí una acción suplementaria, o sea, corrigen unas a otras sus deficiencias de aminoácidos y logran así elevar considerablemente su valor biológico. Consideramos que la presencia simultánea de las proteínas de la leche que nos ocupa pudiera haber ejercido algún efecto de suplementación proteica que compensara una posible alteración ocurrida en el valor nutricional de alguna de las proteínas consideradas individualmente. Por eso *West and Todd*<sup>18</sup> señala que el método de PER proporciona una buena manera de comparar el valor biológico entre diversas proteínas o entre proteínas de diversas mezclas de alimentos. Como decíamos al comienzo, una de las objeciones hechas con más frecuencia a los estudios de evaluación de la calidad proteica de determinados alimentos es que las personas habitualmente ingieren mezclas de los mismos, no *uno sólo* de ellos. Tendría, pues, más sentido práctico evaluar la calidad proteica de las combinaciones o menús preparados.

En el caso de una leche entera acidificada en polvo que en nuestro medio se utiliza exclusivamente para consumo infantil, la calidad proteica de la misma constituye un importante elemento que no debe pasarse por alto, ya que una gran parte de los niños que la toman no ingieren otros alimentos fuentes de proteína y por lo tanto no se beneficiarán del fenómeno de suplementación proteica.

#### RESUMEN

Los productos destinados a la alimentación infantil requieren atención especial en cuanto a su valor nutricional. Cualquier modificación en su elaboración debe ser cuidadosamente probada

antes de decidir si es o no adecuada. En caso de productos lácteos, la cuestión se hace todavía más rigurosa.

En este trabajo presentamos una evaluación de la calidad proteica de la leche entera acidificada en polvo (sucedáneo del Pelargón) a propósito de ciertos cambios propuestos.

Utilizamos un método bioquímico y otro biológico. El primero consiste en la determinación de los grupos amino libres a continuación de una digestión *in vitro* con tripsina, y el segundo mide la relación de eficiencia proteica (PER) o respuesta de crecimiento en ratas jóvenes que reciben el alimento en cuestión.

El análisis estadístico nos permite afirmar que, si se produjera alguna alteración en la calidad de las proteínas, sería insignificante.

Consideramos que el efecto suplementario de las proteínas lácteas entre sí pudiera ser la causa que mantenga el valor biológico prácticamente sin variar.

Nuestra comprobación demuestra que la modificación propuesta es aceptable desde el punto de vista nutricional.

#### SUMMARY

Products destined for the nourishing of children require a special attention with regard to its nutritional value. Any change in its manufacturing process should be carefully tested before deciding whether it is adequate or not. When it refers to lacteous products, the matter is still more strict. In this study we present an evaluation of the proteic contents of powdered acidified whole milk (sucedaneous of Pelargon) in connection with several proposed changes. We used both biological and biochemical methods. The former con-

sisted in the determination of free amino groups after a digestion *in vitro* with trypsin, and the latter measured the protein efficiency relationship (PER) or growing response in young rats fed with that product. The statistical analysis permits us to affirm that, should an alteration of the quality of the proteins be produced, it would be quite unimportant. We consider that the supplementary effect of the lacteous proteins could be the reason for its sustaining the biological value almost unchanged. Our comparison shows that the proposed modification is acceptable from the nutritional point of view.

#### RESUME

Les produits destinés à l'alimentation infantile requièrent une attention spéciale en relation avec sa valeur nutritive. N'importe quelle modification dans sa élaboration elle doit être soigneusement prouvée avant décider si elle est ou non adéquat. Dans le cas des pro-

duits lactés, la question elle est encore plus rigoureuse. Dans cet travail nous présentons une évaluation de la qualité des protéines dans la lait entière acidifiée en poudre (succédanée du Pelargon) à propos des quelques changements proposés. Nous avons utilisé une méthode biochimique et une méthode biologique. La première consiste de la détermination des groupes amino libres après d'une digestion *in vitro* avec trypsin, et la seconde pour mesurer la relation de l'efficacité des protéines ou la réponse du croissance des jeunes rats qui avaient reçu l'aliment en question. L'analyse statistique nous permet d'affirmer que, en cas d'une altération dans la qualité des protéines, elle serait insignifiante. Nous considérons que l'effet complémentaire des protéines lactées pourrait être la cause qu'elle maintint la valeur biologique pratiquement sans variation. Notre vérification a démontrée que la modification proposée elle est acceptable au point de vu de la nutrition.

#### BIBLIOGRAFIA

- 1.—Arroyave, G., Scrimshaw, N. S., Bressani, R.: Avances en el campo de la nutrición. III. Valor biológico de las dietas y de los alimentos proteicos. Bol. Of. San. Pan., Suplem. No. 3, 3-30, 1959.
- 2.—Association of Official Agricultural Chemists: Official Methods of Analysis, 9th ed., p. 680. The Collegiate Press, George Banta Co. Inc., Menasha, Wisconsin, 1950.
- 3.—*Ibid.*, p. 207.
- 4.—*Ibid.*, p. 373.
- 5.—*Ibid.*, p. 206.
- 6.—Bender, A.: Dictionary of Nutrition and Food Technology, 2nd ed., p. 162, Butterworths & Co., London, 1965.
- 7.—Campbell, J. A.: Evaluation of protein in foods for regulatory purposes. J. Agric. and Food Chem., 8: 323-327, 1960.
- 8.—FAO: Necesidades de Proteínas. Informe de un Grupo mixto FAO/OMS de expertos. FAO: Reuniones sobre nutrición No. 37; Org. mund. Salud Ser. Inf. Téc. No. 301, 1966.
- 9.—Hauck, P. B., Oser, B. L., Summerson, W. H.: Practical Physiological Chemistry, 13th ed., p. 897, Blakiston Co., New York, 1954.
- 10.—Jellicoff, D. B.: Infant Nutrition in the Subtropics and Tropics, p. 9, World Health Organization, Geneva, 1955.
- 11.—Kon, S. K.: La leche y los productos lácteos en la nutrición humana. FAO: Estudios sobre nutrición No. 17, 1959.
- 12.—Mojonnier, B.: Instruction manual for setting up and operating the Mojonnier milk tester for making both fat and moisture (or total solids) tests in all dairy products, Bulletin 101, p. 44-45, 1925.

- 13.—*Nicholls, L., Sinclair, H. M., Jelliffe, D. B.*: Tropical Nutrition and Dietetics, 4th ed., p. 20. Bailliere, Tindall and Cox, London, 1961.
- 14.—Pharmacopeia of the United States of America, 17th rev., p. 883. Mack Printing Co., Easton, Pa. 1965.
- 15.—*Platt, B. S., Miller, D. S.*: The net dietary-protein value (N. D. p. V.) of mixtures of foods, its definition, determination and application. Proc. Nutr. Soc., 18: vii, 1959.
- 16.—*Sheffner, A. L., Eckfeldt, G. A., Spector, H.*: The pepsin-digest residue (PDR) amino acid index of net protein utilization. J. Nutr., 60: 105-120, 1956.
- 17.—*Van Buren, J. P., Steinkraus, K. H., Hackler, L. R., El Rawi, I., Hand, D. B.*: Indices of protein quality in dried soy-milks. J. Agric. Food Chem. 12: 524-528, 1964.
- 18.—*West, E. S., Todd, W. R., Mason, H. S., van Bruggen, J. T.*: Textbook of Biochemistry, 4th ed., p. 1360. The Mac Millan Co. Collier-Mac Millan Ltd., New York/London, 1966.

