

TRABAJOS DE INVESTIGACION

Efecto del gosipol libre de diferentes harinas de algodón sobre el crecimiento de ratas y niveles de lisina libre y gosipol libre en órganos, músculo y suero de animales¹

RICARDO BRESSANI², ANSELMO ABURTO³,
ROBERTO GÓMEZ-BRENES⁴ y J. EDGAR BRAHAM⁵
Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP),
Guatemala, C. A.

RESUMEN

Se estudiaron muestras industriales de harinas de semilla de algodón elaboradas por los métodos de prensa, pre-prensa solvente y de extracción con solvente, así como una muestra de harina de algodón cruda no industrializada, y otra que no contenía gosipol.

Las muestras fueron analizadas para establecer su composición química proximal y su contenido de gosipol libre y total, lisina disponible, e índice de solubilidad de nitrógeno en hidróxido de sodio a la concentración de 0.01 normal.

Con el propósito de determinar el efecto del gosipol libre sobre el comportamiento de ratas Wistar, a partir de las harinas de algodón analizadas se prepararon raciones isoproteínicas e isocalóricas suplementadas con lisina y con un contenido creciente de gosipol libre (de 6.3 mg a 199.3 mg/100 g).

-
1. Esta investigación se llevó a cabo con fondos de la Research Corporation, con sede en la ciudad de Nueva York, N. Y., E. U. A.
 2. Jefe de la División de Ciencias Agrícolas y de Alimentos del INCAP.
 3. Parte del estudio aquí descrito corresponde al trabajo de tesis que, en carácter de becario, desarrolló en la citada División el Lic. Aburto, previo a obtener el título de Licenciado en Nutrición del Centro de Estudios Superiores en Nutrición y Ciencias de Alimentos (CESNA), Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia/INCAP.
 4. Científico de la División de Ciencias Agrícolas y de Alimentos del INCAP.
 5. Jefe Asistente de la División en referencia y Director de los Cursos de Posgrado en Ciencias de Alimentos y Nutrición Animal, y en Ciencias y Tecnología de Alimentos del CESNA.

Publicación Científica INCAP E-793.

Recibido: 14-8-1974

Los animales se sacrificaron después de un período de 28 días durante el cual recibieron agua y alimento ad libitum. Se llevó un registro semanal de su crecimiento e ingesta de alimento, y se recolectaron muestras de diferentes órganos y de sangre para analizar su contenido de lisina libre, proteína y gosisol libre.

Según pudo constatarse, se registraron índices de mortalidad de 50 y 100% en los animales que recibieron las raciones que contenían los dos niveles más altos de gosisol libre, respectivamente.

Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente, encontrándose diferencias significativas ($P < 0.01$) entre los tratamientos aplicados en lo referente a peso corporal, lisina libre en suero e hígado, y gosisol libre en hígado.

El análisis químico no detectó gosisol en intestinos y músculo, y al igual que en el hígado su contenido de proteína total y de lisina disponible fue bastante similar para los diferentes tratamientos.

A partir de estos hallazgos, se sugiere la conveniencia de emprender un estudio más a fondo con miras a eliminar de la dieta aquellos factores que interfieren con las implicaciones que éstos puedan tener en el mecanismo de toxicidad del gosisol.

INTRODUCCION

El uso de productos de harina de semilla de algodón en la alimentación animal lo complica la presencia del gosisol, compuesto que según se ha demostrado, es tóxico para los animales monogástricos (1, 2).

Mucho se ha especulado acerca de los posibles mecanismos de acción y sobre la naturaleza acumulativa de la toxicidad del gosisol, sin que hasta la fecha se haya establecido claramente el verdadero mecanismo de esa toxicidad (1).

Manual, citado por Rohem (3), Athens, Cartwright y Wintrobe (4) y Smith (5), atribuyen la toxicidad de este compuesto a la inhibición de la conversión de oxihemoglobina a hemoglobina en la sangre, y también a la hemólisis de eritrocitos. El "stress" resultante que afecta los órganos circulatorios y respiratorios comúnmente produce edema de los pulmones, anemia hemolítica, y fallo cardíaco. Otros síntomas más generales son anorexia, depresión del crecimiento y, finalmente, la muerte (1).

Los hallazgos notificados por Smith (6), Smith y Clawson (7) y Clawson, Smith y Barrick (8) indican que el gosisol está presente en los tejidos de cerdos. En uno de sus estudios, Smith (6) aisló el pigmento de tejido de cerdo, identificán-

dolo químicamente. Los autores antes citados también han demostrado que en los tejidos corporales el gosipol libre y total aumentan conforme el período de alimentación se extiende hasta un máximo de 28 días.

Ahmad, citado por Albrecht *et al.* (9), estudió la absorción y excreción de gosipol marcado con C^{14} administrado a cerdos. Dicho autor encontró muy poca radiactividad en los metabolitos urinarios, demostrando así que el gosipol no se excreta ni metaboliza fácilmente a compuestos que pueden ser eliminados por vía urinaria. En contraste, Skutches, también citado por Albrecht *et al.* (9), notificó radiactividad en el CO_2 expirado de ratas, y encontró metabolitos urinarios radiactivos, hecho indicativo de que la molécula de gosipol estaba alterada metabólicamente. Cabe agregar que también han sido examinados otros efectos del gosipol sobre los animales monogástricos (1).

El objetivo principal del estudio aquí descrito fue determinar el posible efecto que el gosipol ejerce en el metabolismo proteínico de ratas, así como la localización de dicho compuesto en algunos órganos de los animales usados en la investigación.

MATERIALES Y METODOS

Muestras

Las harinas de semilla de algodón se obtuvieron de diversas plantas centroamericanas procesadoras de este producto, y de los Estados Unidos de América. Se utilizaron para el estudio, muestras de harina procesadas por el método de prensa, de pre-prensa solvente, y por solvente. Una de las harinas utilizadas se preparó directamente en nuestros laboratorios, sometiendo la semilla a desmote, molienda y desgrase con éter de petróleo, sucesivamente.

Previo a iniciar los análisis químicos y biológicos las muestras se tamizaron a un grueso de 80 mallas, guardándose submuestras representativas en frascos de vidrio. Tanto unas como otras se almacenaron en un cuarto refrigerado a la temperatura de $4^{\circ}C$ hasta el momento de practicar los análisis químicos y las pruebas biológicas.

Análisis químicos

El contenido de proteína, grasa y humedad se determinó según los métodos de la AOAC (10), aplicándose también para los análisis de ácidos grasos libres y de gopiol libre y total, las técnicas de la AOAC (10).

El contenido de lisina total fue determinado por procedimientos microbiológicos usando *Leuconostoc mesenteroides*, y el de lisina disponible por el método de Conkerton y Frampton (11). La solubilidad del nitrógeno se estableció siguiendo de nuevo el procedimiento de la AOAC (10).

Análisis biológico

Estudio en ratas. Para este experimento se utilizaron 60 ratas blancas, raza Wistar, de la colonia animal del INCAP, distribuyéndose de acuerdo a su peso en 10 grupos de 6 ratas cada uno (3 machos y 3 hembras).

Los animales se alojaron en jaulas individuales con fondos levadizos de tela metálica. Durante los 28 días que abarcó el período experimental las ratas recibieron agua y alimento *ad libitum*, y durante ese lapso se llevó un registro semanal de su crecimiento e ingesta de alimento. Al término de los 28 días los animales fueron sacrificados, obteniéndose de cada uno muestras de sangre, hígado, músculo e intestino. Luego, las muestras correspondientes a hígado, músculo e intestino se disecaron y prepararon para efectuar el análisis químico correspondiente, determinándose su contenido de gopiol libre y proteína total. Asimismo, tanto en el suero como en el intestino, músculo e hígado se hicieron determinaciones de lisina disponible por métodos electroforéticos (12).

Las raciones preparadas para cada uno de los 10 grupos de animales fueron elaboradas a partir de harinas de semilla de algodón previamente analizadas para determinar su composición química, usándolas individualmente o combinadas entre sí para obtener el nivel de gopiol libre deseado. Todas las raciones se analizaron para determinar su contenido de gopiol libre usando el método de la AOAC (10).

En el Cuadro No. 1 se detalla la composición de las raciones utilizadas en los ensayos biológicos, indicándose además su contenido de lisina disponible y de gopiol libre y total. Como puede observarse, el contenido de gopiol libre determina-

do por análisis químico varía en orden ascendente, con un mínimo de 6.3 mg % y un máximo de 199.3 mg % para las raciones 1 y 10, respectivamente. Las raciones fueron isoproteínicas (al nivel de 20%) e isocalóricas, manteniéndose el contenido de lisina disponible en las diferentes raciones al grado más constante posible. El nivel de lisina disponible se refiere al contenido de lisina de los ingredientes, más el porcentaje de lisina libre agregado a las diferentes raciones.

RESULTADOS

Químicos

El Cuadro No. 2 muestra los resultados en cuanto a la composición química proximal de las muestras e indica también su contenido de gopipol libre y total, y de lisina disponible y total, así como el porcentaje de nitrógeno soluble en hidróxido de sodio (NaOH). Los datos señalan que las harinas obtenidas por el método de prensa contienen más grasa que el material procesado por solvente o aplicando el procedimiento de pre-prensa-solvente. Según se observa, el contenido de humedad y de proteína fue bastante similar en las diferentes muestras.

Por otra parte, las cifras revelan que el contenido de gopipol libre varió apreciablemente entre las diversas muestras, encontrándose los valores extremos en la harina de semilla de algodón cruda (1.761 g%) y en la harina de algodón libre de glándula ("glandless"), variedad Hopi (0.017 g%). En lo referente al contenido de gopipol total, puede aseverarse que éste siguió la misma tendencia que el del gopipol libre.

El promedio de nitrógeno soluble en NaOH a la concentración de 0.01 N, fue de 21.0 y 24.4% para las harinas producidas por el método de prensa, encontrándose los valores más altos (72.0 y 83.8%) en las harinas de algodón cruda y libre de glándula ("glandless"), respectivamente.

La cantidad de ϵ -amino lisina, o lisina disponible, acusa variaciones entre las harinas preparadas por los diferentes procesos, presentando la harina de semilla de algodón cruda el valor más alto (1.713 g%).

CUADRO N° 1

COMPOSICION DE LAS RACIONES UTILIZADAS EN LOS ENSAYOS BIOLÓGICOS CON RATAS EN CRECIMIENTO
(Expresada en g/100 g)

Ingrediente	Ración No.									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Harina de algodón:										
Glandless	36.36						31.60		31.60	
Iodesa		38.76								
El Dorado			39.14							
Corona				40.16		37.30				
Adepsa					36.36			31.60		26.05
Almendra						2.50	5.00	5.00	7.50	10.00
L-lisina HCl	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
Minerales*	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Aceite de hígado de bacalao	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Aceite de soya	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Almidón de maíz	53.34	50.95	50.56	49.54	53.34	49.90	53.10	53.10	53.10	53.05
TOTAL	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Lisina disponible g %**	0.89	0.88	0.96	0.86	0.80	0.95	0.88	0.80	0.94	0.84
Gosipol libre mg/100 g***	6.3	16.4	21.0	21.6	31.6	64.1	93.5	115.5	137.1	199.3
Gosipol total mg/100 g**	22.2	448.8	485.7	454.6	430.1	475.0	125.0	479.5	177.9	526.7

* Mezcla mineral Hegsted (17).

** Calculada a partir de los ingredientes.

*** Analizada químicamente

Solución de vitaminas, 5 ml/100 g de ración (18).

CUADRO Nº 2

COMPOSICION QUIMICA DE HARINAS DE SEMILLA DE ALGODON PRODUCIDAS EN CENTRO AMERICA Y EN LOS ESTADOS UNIDOS DE AMERICA, POR TRES METODOS DIFERENTES DE PROCESAMIENTO
(Expresada en g/100 g)

Tipo de harina	Iodesa*	Adepsa*	Corona* Pre-prensa solvente	Almendra**	El Dorado*	Glandess***
Obtención	Prensa	Prensa		Solvente	Solvente	Solvente
Gosipol libre	0.042	0.087	0.053	1.761	0.053	0.017
Gosipol total	1.158	1.183	1.132	2.114	1.241	0.061
N soluble en NaOH	21.0	24.4	51.4	72.0	41.0	83.8
Proteína	51.6	55.0	49.8	53.4	51.1	55.0
Lisina disponible	1.494	1.372	1.418	1.713	1.631	1.617
Lisina total	1.785	1.703	1.610	2.139	2.440	2.233
Humedad	5.41	5.83	8.45	9.13	9.82	6.58
Extracto etéreo	8.09	4.13	3.53	3.79	2.06	3.19
Acidos grasos libres	8.4	7.6	9.2	8.2	11.2	18.4

* Obtenidas de fábricas centroamericanas.

** Harina de semilla de algodón cruda, preparada en los laboratorios de la División de Ciencias Agrícolas y de Alimentos del INCAP.

*** Obtenida de los Estados Unidos de América.

CUADRO N° 3

PESO PROMEDIO DE 10 GRUPOS DE RATAS (6 en cada grupo) CLASIFICADAS POR SEXO Y ORDENADAS DE ACUERDO AL NIVEL DE GOSIPOL LIBRE EN LA RACION INGERIDA

Nivel de gosipol libre en la ración ingerida mg/100 g	Peso promedio, g							
	7 días		14 días		21 días		28 días	
	M	H	M	H	M	H	M	H
6.3	81	75	128	109	169	138	216	164
16.4	83	74	127	111	176	142	223	166
21.0	82	70	122	101	157	127	199	143
21.6	77	76	115	115	158	146	202	169
31.6	73	70	110	102	151	128	192	146
64.1	73	71	102	100	138	125	164	147
93.5	66	65	98	99	134	126	175	155
115.5	60	56	83	77	112	102	139	128
137.1	55	46	66	49	78	52	121	88**
199.3	46	39	42	24*	42*	***	***	***

M = Ratas machos H = Hembras.

* Promedio de dos ratas.

** Peso de una rata.

*** Mortalidad = 100%.

Biológicos

El comportamiento de los animales experimentales sometidos a las distintas raciones investigadas se aprecia en el Cuadro No. 3. Como los datos lo revelan, en las ratas alimentadas con los niveles más bajos de gosipol libre (raciones No. 1, 2, 3, 4 y 5) el promedio ponderal a los 28 días fue de 216, 223, 199, 202 y 192 g para las ratas macho, y 164, 166, 143, 169 y 146 para las hembras, en ese orden. El índice de eficiencia proteínica (IEP) que en el Cuadro No. 3 no se muestra en el mismo orden, fue de 1.87, 1.91, 1.48, 1.67 y 1.56 para los machos, y de 1.49, 1.42, 1.16, 1.40 y 1.19 para las hembras. Al final del período experimental los animales que recibieron las dietas con los niveles más altos de gosipol libre (raciones No. 6, 7 y 8) acusaron un promedio ponderal de 164, 175 y 139 g para las ratas macho, y de 147, 155 y 128 para las hembras, respectivamente. En el mismo orden se obtuvieron índices de eficiencia de utilización del alimento de 1.36, 1.86 y 1.36 para los machos, y de 1.29, 1.55 y 1.30 para las hembras.

En las ratas alimentadas con las raciones que contenían los dos niveles más elevados de gosipol libre (137.1 y 199.3 mg/100 g) se registraron índices de mortalidad de 50 y 100%, respectivamente, antes de que el período experimental llegara a su término. El peso promedio para el 50% de las ratas restantes que consumieron la ración No. 9, fue de 110 g con un IEP de 1.27. La relación entre crecimiento e ingesta de alimento se aprecia gráficamente en la Figura 1.

Los datos concernientes al peso del hígado de los animales sacrificados al concluir el período experimental se detallan en el Cuadro No. 6. Según se observa, el contenido de gosipol libre en la dieta ingerida afectó directamente el crecimiento de los animales y, en forma combinada, el peso del hígado de las ratas. Asimismo, la comparación estadística entre los diferentes grupos, aplicando el análisis de variancia, muestra claramente que el nivel de gosipol libre en cada una de las raciones tuvo un efecto significativo ($P < 0.01$) sobre el peso de dicho órgano.

Determinaciones en Material Biológico

En algunos órganos de los animales. En el Cuadro No. 7 se presentan los datos concernientes al contenido de gosipol libre en el hígado de las ratas. Según los análisis de variancia

practicados, las diferencias observadas entre los distintos grupos muestran un efecto significativo ($P < 0.01$) de la ingesta de gosipol sobre el contenido de gosipol libre determinado en el hígado. Este efecto no fue identificado por la curva de absorción de dianilinosipol.

Los resultados de la determinación de lisina libre efectuada también en el hígado de los animales, se sumaliza en el Cuadro No. 8. Según se observa, los valores de lisina para los grupos alimentados con la dieta de menor contenido de gosipol libre, fueron más altos que los determinados en aquéllos cuyas dietas contenían altos porcentajes de gosipol libre. El contenido de lisina libre en el hígado muestra una relación inversamente proporcional al nivel de gosipol libre en la ración.

Con respecto a los niveles de lisina libre en intestino y músculo, es evidente que no hubo diferencias apreciables entre los distintos tratamientos, tal como lo muestran los datos expuestos en el Cuadro No. 9. El análisis estadístico a que se sometieron estos resultados revela diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) en lo concerniente a niveles de lisina libre en el hígado, tanto entre los grupos experimentales, como según el sexo dentro de los propios grupos.

Por otro lado, como se indica en el Cuadro No. 10, no se constataron variaciones con respecto al contenido de proteína total en hígado, intestino y músculo entre los diferentes tratamientos.

En el suero sanguíneo de las ratas. Los resultados del análisis de lisina libre en el suero sanguíneo de los animales consta en el Cuadro No. 11. Como puede apreciarse, el contenido de lisina disminuyó a medida que el nivel de gosipol libre en la ración aumentaba. Las diferencias entre los distintos tratamientos resultaron ser altamente significativas ($P < 0.01$) desde el punto de vista estadístico. La relación entre lisina libre en el hígado y en el suero sanguíneo, y entre lisina libre y gosipol libre hepáticos, se exponen en forma gráfica en las Figuras 2 y 3, respectivamente.

CUADRO N° 4

INGESTA DE ALIMENTO EN RATAS JOVENES (clasificadas por sexo) ALIMENTADAS CON RACIONES QUE CONTENIAN NIVELES DIFERENTES DE GOSIPOL LIBRE

Nivel de gosipol libre en la ración ingerida mg/100 g	Ingesta promedio, g							
	7 días		14 días		21 días		28 días	
	M	H	M	H	M	H	M	H
6.3	78	74	110	92	129	107	129	114
16.4	78	75	106	101	137	123	136	114
21.0	87	76	115	100	122	109	181	119
21.6	81	81	104	108	138	126	136	113
31.6	76	72	108	103	133	125	141	108
64.1	71	73	90	93	135	107	126	104
93.5	54	56	74	79	101	100	110	106
115.5	53	53	76	75	97	86	102	92
137.1	45	46	57	53	57	46	57*	94**
199.3	39	38	38	29*	20*	***	***	***

* Ingesta promedio de dos ratas.

** Ingesta de una rata.

*** Mortalidad = 100%.

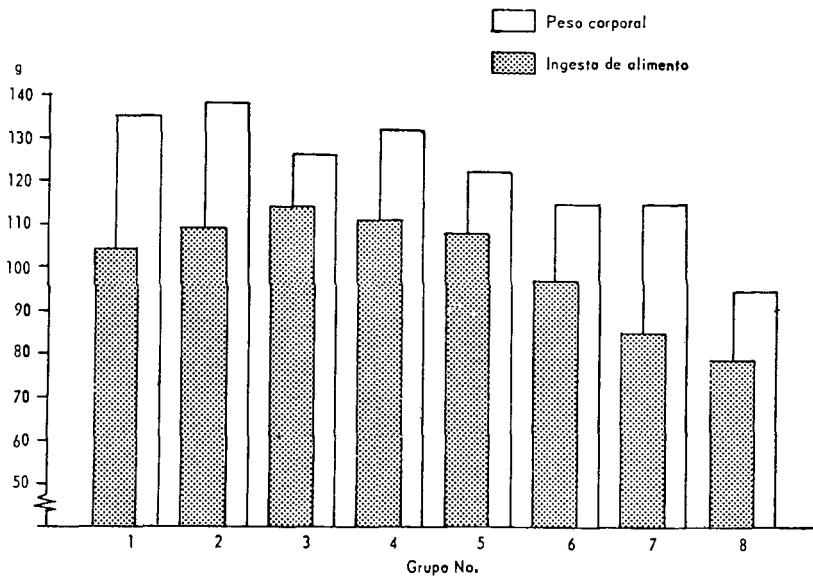


Figura 1. Crecimiento de ratas e ingestión de alimento.

CUADRO N° 5

INGESTA TOTAL DE GOSIPOL LIBRE DURANTE UN PERIODO DE 28 DIAS EN 10 GRUPOS DE RATAS (6 en cada grupo) ORDENADAS DE ACUERDO AL NIVEL DE GOSIPOL LIBRE EN LA RACION INGERIDA

Nivel de gosipol libre en la ración ingerida mg/100 g	Ingesta total de gosipol libre promedio mg
6.3	26.27
16.4	71.32
21.0	89.78
21.6	95.80
31.6	136.95
64.1	249.96
93.5	318.18
115.5	365.67
137.1	330.00*
199.3	123.19**

* Ingesta promedio de tres ratas.

** Ingesta promedio durante un período de 14 días.

CUADRO N° 6

**PESO DE HIGADO EN RATAS ALIMENTADAS CON RACIONES QUE
CONTENIAN NIVELES DIFERENTES DE GOSIPOL LIBRE Y SACRIFI-
CADAS AL TERMINO DE 28 DIAS**

Nivel de gosipol libre en la ración ingerida mg/100 g	Peso en gramos					
	Machos			Hembras		
6.3	12.4	10.2	9.8	9.7	10.4	10.3
16.4	11.3	12.0	9.6	8.7	8.6	9.6
21.0	8.7	8.4	9.2	10.2	10.1	8.1
21.6	8.1	8.2	9.4	9.1	8.0	9.1
31.6	7.1	8.6	8.7	8.8	7.8	8.2
64.1	7.6	7.5	7.4	7.8	8.5	7.1
93.5	7.6	7.4	7.2	7.8	7.9	7.6
115.5	6.6	7.0	6.9	6.7	6.4	7.1
137.1	5.3	5.9	*	4.8	*	*

* Mortalidad = 100%.

CUADRO N° 7

**CONTENIDO INDIVIDUAL DE GOSIPOL LIBRE EN EL HIGADO DE
RATAS ALIMENTADAS CON RACIONES QUE CONTENIAN NIVELES
DIFERENTES DE GOSIPOL LIBRE**

Nivel de gosipol libre en la ración ingerida, mg/100 g	Contenido de gosipol, mg/100 g					
	Machos			Hembras		
6.3	2.8	4.8	2.8	4.4	4.8	4.5
16.4	6.2	5.6	6.2	6.9	5.5	6.7
21.0	7.3	7.2	7.2	7.4	7.4	7.8
21.6	7.1	7.2	7.1	7.0	7.4	7.2
31.6	8.1	7.8	8.0	7.8	7.9	8.4
64.1	8.9	8.9	8.6	8.8	8.4	8.5
93.5	9.1	9.6	9.8	9.6	9.0	9.4
115.5	12.0	13.2	13.2	13.4	10.2	10.1
137.1	17.2	17.1	*	15.6	*	*

* Mortalidad = 100%.

CUADRO N° 8

CONTENIDO INDIVIDUAL DE LISINA LIBRE EN EL HIGADO DE RATAS ALIMENTADAS CON RACIONES QUE CONTENIAN NIVELES DIFERENTES DE GOSIPOL LIBRE

Nivel de gosipol libre en la ración ingerida mg/100 g	Contenido de lisina, mg/100 g					
	Machos			Hembras		
6.3	7.33	7.14	7.28	7.31	7.65	7.96
16.4	6.46	6.36	6.66	6.96	7.00	6.82
21.0	5.15	5.15	5.83	5.80	6.21	6.32
21.6	5.21	5.35	5.48	6.21	6.36	5.81
31.6	4.69	4.57	4.55	5.28	5.31	4.81
64.1	4.18	4.16	4.21	4.05	4.00	4.28
93.5	3.80	3.10	3.80	3.36	3.21	3.31
115.5	2.09	2.50	2.50	2.89	2.94	2.51
137.1	1.97	1.99	*	1.50	*	*

* Mortalidad = 50%.

CUADRO N° 9

CONTENIDO DE LISINA LIBRE EN MUSCULO E INTESTINO DE RATAS ALIMENTADAS CON RACIONES QUE CONTENIAN NIVELES DIFERENTES DE GOSIPOL LIBRE

Nivel de gosipol libre en la ración ingerida mg/100 g	Contenido de lisina promedio, mg/100 g	
	Intestino	Músculo
6.3	12.57	2.49
16.4	12.57	2.82
21.0	13.47	3.64
21.6	13.91	2.51
31.6	12.74	2.81
64.1	12.86	3.10
93.5	13.89	2.57
115.5	13.29	3.18
137.1	16.60*	2.97*

* Promedio de tres ratas.

CUADRO N° 10

CONTENIDO DE PROTEINA EN HIGADO, INTESTINO Y MUSCULO DE RATAS ALIMENTADAS CON RACIONES QUE CONTENIAN NIVELES DIFERENTES DE GOSIPOL LIBRE

Nivel de gosipol libre en la ración ingerida mg/100 g	Contenido proteínico promedio, g%		
	Hígado	Intestino	Músculo
6.3	36.25	44.38	47.50
16.4	38.75	43.75	48.12
21.0	37.50	45.62	48.75
21.6	38.12	45.00	46.25
31.6	36.88	44.38	48.12
64.1	38.75	45.00	47.50
93.5	37.50	45.00	46.88
115.5	37.50	43.21	48.75
137.1	40.00*	45.12*	46.88*

* Promedio de tres ratas.

CUADRO N° 11

CONTENIDO INDIVIDUAL DE LISINA LIBRE EN EL SUERO DE RATAS ALIMENTADAS CON RACIONES QUE CONTENIAN NIVELES DIFERENTES DE GOSIPOL LIBRE

Nivel de gosipol libre en la ración ingerida mg/100 g	Contenido de lisina, mg/100 ml					
	Machos			Hembras		
6.3	6.255	5.074	4.803	5.671	5.760	6.879
16.4	3.651	3.702	5.261	4.583	4.128	5.777
21.0	6.045	3.994	4.644	4.025	6.255	*
21.6	4.539	*	3.514	3.811	3.613	*
31.6	3.702	3.596	4.184	3.788	*	3.512
64.1	2.896	2.328	2.760	*	2.125	2.068
93.5	2.720	*	1.835	1.912	*	1.998
137.1	1.860	1.652	**	1.712	**	**

* Pérdida de muestra.

** Mortalidad = 50%.

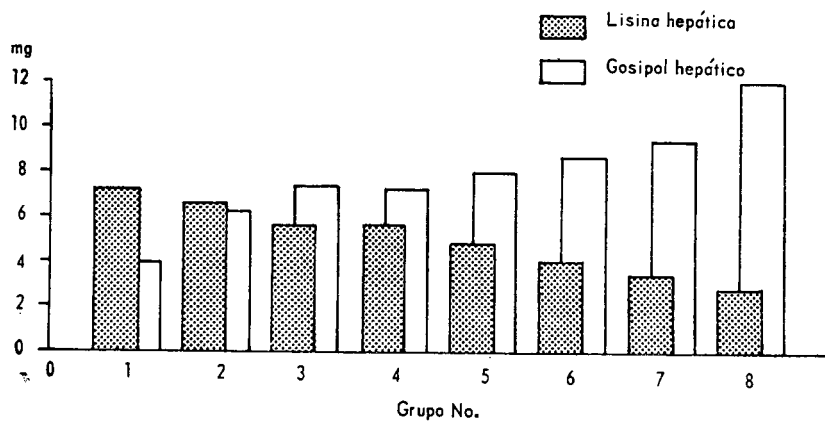


Figura 2. Lisina libre y gosípol libre en hígado.

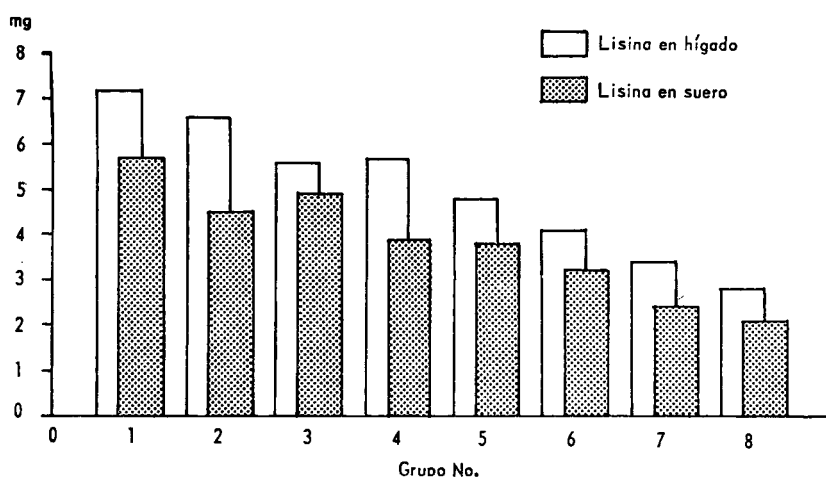


Figura 3. Lisina libre en hígado y suero de ratas.

La comparación estadística de los grupos 1 a 8 por análisis de variancia, indicó que los niveles de gosipol libre, tiempo y sexo de los animales alimentados con cada una de las raciones tuvieron un efecto significativo ($P < 0.01$) sobre el crecimiento de los animales. En vista de que en el grupo 9 la mortalidad fue de 50%, no se pudo realizar el análisis estadístico a que se alude. Sin embargo, la tendencia a disminución en crecimiento puede observarse en el Cuadro No. 3.

El peso promedio del alimento ingerido por los animales durante el período experimental se presenta en el Cuadro No. 4. La evaluación estadística de los datos —por análisis de variancia— revela que los niveles de gosipol, tiempo y sexo de las ratas que recibieron cada una de las raciones incluidas en el estudio tuvo un efecto significativo ($P < 0.01$) sobre su ingestión del alimento.

El Cuadro No. 5 expone la cantidad total de gosipol libre ingerido por las ratas (sin distinción de sexo) de acuerdo a las diferentes raciones y a través de todo el período experimental.

DISCUSION

Los efectos fisiológicos del gosipol sobre el organismo de animales monogástricos son conocidos tan sólo en términos de toxicidad general. Ello se debe a que los síntomas resultantes de su ingesta ofrecen poca especificidad relativa, hecho que ha dificultado la determinación del lugar y del mecanismo de acción de este pigmento.

Los resultados biológicos obtenidos en el curso de esta investigación sugieren que el gosipol libre afecta principalmente el crecimiento de animales monogástricos, a causa de que la ingesta de alimento disminuye por el efecto tóxico *per se* del gosipol. Este efecto se manifiesta también en las concentraciones hepáticas de gosipol libre y lisina libre así como en el nivel sérico de este aminoácido esencial. Los datos recolectados indican que no hubo deposición de gosipol en la pared intestinal ni en el tejido muscular; estas conclusiones se basan en que no se detectó gosipol en dichos tejidos, y en que los niveles de lisina libre en ambos no difirieron de los del grupo control (ración No. 1).

El peso corporal de los animales, así como el peso del hígado, acusaron una relación inversa con el contenido de gosispol libre en la ración, y una relación directa con el tiempo de duración de este tratamiento. Un punto de interés lo constituye el hecho de que los grupos de animales que ingirieron menos alimento tuvieron ganancias de peso que aquéllos cuya ingesta fue mayor, siendo obvio que al incrementar el consumo de alimento la cantidad total de gosispol libre ingerido también aumenta.

Eagle (13) obtuvo resultados similares en sus experimentos con ratas, los cuales parecen indicar que las pérdidas de peso corporal sufridas por éstas eran proporcionales a la cantidad de gosispol puro administrado. Otros autores relacionan dicha reducción de peso con la cantidad de ración ingerida y no con el contenido de gosispol libre de ésta (7). En el estudio aquí descrito se administró en la dieta, gosispol libre en dosis crecientes, y la cantidad total de éste ingerido al concluir el período experimental, también siguió un orden creciente, independiente de la cantidad de ración consumida por los diferentes grupos.

Los resultados obtenidos en la presente investigación sugieren, pues, un efecto tóxico directo del nivel de gosispol libre en la ración sobre el contenido de lisina en el hígado y suero de ratas, así como en las ganancias ponderales y niveles hepáticos de gosispol libre.

La información de que se dispone en la actualidad no permite establecer si las variaciones encontradas en el contenido de lisina en el hígado y suero de los animales, son el resultado de una acción específica del gosispol libre sobre el metabolismo de la lisina. Bien puede ser que tales variaciones se deban a cierto efecto de la ingesta del alimento, pero, como ya se dijo, a pesar de que hubo diferencias en la ingestión del alimento, la ingesta total de gosispol libre acusó una relación inversa con el contenido de lisina informado.

Los niveles hepáticos de gosispol libre y la ingesta total de este compuesto tienen una relación inversa con el nivel hepático de lisina libre, hallazgo que confirma el efecto tóxico asociado al gosispol libre dietético. Cabe subrayar que, según se indicó, el gosispol libre hepático no fue identificado por la curva de absorción del dianilinosopol, y que bien puede ser

la expresión de otros pigmentos hepáticos o de compuestos resultantes del metabolismo del gossipol.

Este hallazgo concuerda con los resultados obtenidos por Buitrago, Clawson y Smith (14), Clawson, Smith y Barrick (15) y Smith (16). Este último (6, 16) aisló este pigmento en forma cristalina del hígado de cerdos, identificándolo como dianilnogossipol por su espectro de absorción con luz ultravioleta e infrarroja.

SUMMARY

Effect of free gossypol in the diet on the growth of rats and free lysine and free gossypol content of several organs, muscle and blood serum.

Several industrial samples of cottonseed meal processed by either screw press, screw press followed by solvent extraction, or by solvent extraction alone, as well as a raw, unextracted meal were studied. The samples were analyzed for their proximate chemical composition and for their free and total gossypol and available lysine content and nitrogen solubility in 0.01 N sodium hydroxide.

Isoproteic and isocaloric diets supplemented with lysine and containing increasing amounts of free gossypol (from 6.3 to 199.3 mg/100 g) were fed to rats of the Wistar strain. All experimental animals were sacrificed after receiving diets and water ad libitum for 28 days, during which weekly records of weight gain and food intake were kept. Blood and samples of several organs and muscle were collected and analyzed for their lysine, protein and free gossypol content.

Mortality ranged from 50 to 100 percent respectively in the groups fed the diets containing the two highest levels of gossypol tested. The data showed significant ($P < 0.01$) differences among the various treatments for weight gain and free lysine in blood serum and liver, and for free gossypol in liver. Chemical analysis did not detect any gossypol in the intestine and muscle, and their protein content was, as in the liver, similar among the different treatments.

The findings suggest that further studies are necessary in which those factors in the diet that affect or modify the toxicity of gossypol should be eliminated.

BIBLIOGRAFIA

1. Bressani, R., J. E. Braham & R. Jarquín. Harina de torta de semilla de algodón en la alimentación de cerdos. Presentado en: Seminario sobre Sistemas de Producción Porcina en América Latina. Cali, Colombia, Septiembre 18-21, 1972. CIAT.
2. Phelps, R. A. Cottonseed meal for poultry from research to practical application. *World Poultry Sci. J.*, 22: 86-112, 1966.
3. Rohem, N. J., J. P. Lee & O. R. Sinnhuber. Accumulation and elimination of dietary gossypol in the organs of rainbow trout. *J. Nutr.*, 92: 425-428, 1967.

4. Athens, J. W., G. E. Cartwright & M. M. Wintrobe. Hematologic manifestation of lysine deficiency in swine. *Proc. Soc. Exptl. Biol. & Med.*, 97: 909-912, 1958.
5. Smith, H. A. The pathology of gossypol poisoning. *Amer. J. Pathol.*, 33: 353-365, 1957.
6. Smith, F. H. Isolation of gossypol from tissues of porcine livers. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 40: 60-61, 1963.
7. Smith, F. H. & A. J. Clawson. Effect of diet on accumulation of gossypol in the organs of swine. *J. Nutr.*, 87: 317-322, 1965.
8. Clawson, J. A., F. H. Smith & E. R. Barrick. Determination of gossypol and iron in the livers of pigs fed rations containing cottonseed meals of varying gossypol content. *J. Amer. Sci. Abst.*, 19: 1254, 1960.
9. Albrecht, J. E., J. A. Clawson, F. H. Smith & W. L. Alsmeyer. Effect of initial weight and days on feed on the accumulation of gossypol in pig livers. *J. Animal Sci.*, 32: 96-99, 1971.
10. Association of Official Agricultural Chemists. Official Methods of Analysis of the AOAC. 10th ed. Washington, D. C. The Association, 1965, 957 p.
11. Conkerton, E. J. & V. L. Frampton. Reaction of gossypol with free ϵ -amino groups of lysine in proteins. *Arch. Biochem. Biophys.*, 81: 130-134, 1959.
12. Gómez Brenes, R. A. & R. Bressani. Un método para la determinación de aminoácidos aplicable a problemas de suplementación, fitomejoramiento y bioquímica nutricional. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, 23: 445-564, 1973.
13. Eagle, E. A review of some physiological effects of gossypol and cottonseed pigment glands. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 37: 40-43, 1960.
14. Buitrago, J. A., J. A. Clawson & F. H. Smith. Effects of dietary iron on gossypol accumulation in and elimination from porcine liver. *J. Animal Sci.*, 31: 554-558, 1970.
15. Clawson, J. A., F. H. Smith & E. R. Barrick. Accumulation of gossypol in the liver and factors influencing the toxicity of injected gossypol. *J. Animal Sci.*, 21: 911-915, 1962.
16. Smith, F. H. Determination of free and bound gossypol in swine tissues. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 42: 142-147, 1965.
17. 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.
18. Manna, L. & S. M. Hauge. A possible relationship of vitamin B₁₃ to orotic acid. *J. Biol. Chem.*, 202: 91-96, 1953.