

300627

1A  
24



**UNIVERSIDAD LA SALLE A.C.**

**Escuela de Quimica**

Incorporada a la U. N. A. M.

DISTRIBUGION Y DEPOSITO DE GOSIPOL EN  
ORGANOS Y FLUIDOS FISIOLÓGICOS DE  
RATAS MACHOS ALIMENTADAS CON  
HARINA DE SEMILLA DE ALGODON  
COMPLETA

**Tesis Profesional**

Que para obtener el título de :

**Químico Farmacéutico Biólogo**

P r e s e n t a :

MARIA LUISA ALONSO URIARTE



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CAPITULACION	PÁG.
I.	INTRODUCCIÓN..... 1
II.	OBJETIVO..... 3
III.	GENERALIDADES ..... 4
	A) PROPIEDADES QUÍMICAS DEL GOSIPOL 7
	B) TOXICIDAD DEL GOSIPOL ..... 8
	C) EFECTO ANTIFERTILIZANTE DEL GOSI POL ..... 14
	D) METABOLISMO DEL GOSIPOL SIGNIFICADO DE LA BILIS EN EL ME TABOLISMO DEL GOSIPOL ACUMULACIÓN DE GOSIPOL EN LOS TE JIDOS ..... 16
	E) EFECTO DE LA VITAMINA E SOBRE LA REPRODUCCIÓN ..... 19
IV.	MATERIAL Y MÉTODO
	PRUEBAS QUÍMICAS ..... 21
	A) DETERMINACIÓN DE HUMEDAD ..... 22
	B) DETERMINACIÓN DE CENIZAS ..... 23
	C) DETERMINACIÓN DE GRASA CRUDA ... 25
	D) DETERMINACIÓN DE FIBRA CRUDA ... 26
	E) DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA LIBRE. 28
	F) DETERMINACIÓN DE GOSIPOL LIBRE.. 31
	PRUEBAS BIOLÓGICAS
	G) DIETAS UTILIZADAS EN EL EXPERI- MENTO ..... 35

	PÁG.
V. RESULTADOS .....	33
VI. CONCLUSIONES .....	56
VII. BIBLIOGRAFÍA .....	58

## TITULO

DISTRIBUCIÓN Y DEPÓSITO DE GOSIPOL EN ÓRGANOS Y FLUIDOS FISIOLÓGICOS DE RATAS MACHOS ALIMENTADAS CON HARINA DE ALGODÓN COMPLETA.

## INTRODUCCIÓN.

EN LOS ÚLTIMOS AÑOS SE HA ESTUDIADO MUCHO SOBRE LA PLANTA DE ALGODÓN, NO TANTO SOBRE LA OBTENCIÓN DE LA FIBRA TEXTIL QUE ES SU PRINCIPAL USO, SINO POR SU IMPORTANCIA DENTRO DE LA INDUSTRIA ALIMENTICIA, YA QUE LA SEMILLA DE ALGODÓN SE OBTIENE ACEITE DE CONSUMO HUMANO; ESTE ACEITE SE EXTRAE, BIEN POR PRESIÓN O POR EXTRACCIÓN POR DISOLVENTES, ESTOS SON SEGUIDOS POR VARIOS PROCEDIMIENTOS DE REFINACIÓN Y MODIFICACIÓN DE IGUAL FORMA QUE EL PROCEDIMIENTO PARA CUALQUIER ACEITE VEGETAL. LA PASTA DE ALGODÓN SOBRANTE SE HA VENIDO UTILIZANDO COMO UN SUPLEMENTO PROTEÍNICÓ EN DIETAS BALANCEADAS PARA ANIMALES.

LA HARINA DE SEMILLA DE ALGODÓN, ES RICA EN PROTEÍNA, CON TENIENDO ALREDEDOR DE UN 26%, LA CUAL TIENE UN BUEN PATRÓN DE AMINOÁCIDOS, TENIENDO COMO AMINOÁCIDO LIMITANTE A LA - ISOLEUCINA, (10) POR LO QUE SU USO SE HA INCREMENTADO EN ALIMENTOS BALANCEADOS. EXISTEN INSTITUCIONES QUE HAN ESTUDIADO EL POSIBLE EMPLEO DE LA HARINA DE ALGODÓN DESENGRASADA EN LA ALIMENTACIÓN HUMANA COMO EN EL CASO DEL INSTITUTO DE NUTRICIÓN DE CENTRO AMÉRICA Y PANAMÁ (INCAP) DONDE SE DESARROLLÓ LA INCAPARINA QUE ES UN PRODUCTO QUE CONTIENE UN 38% DE HARINA DE SEMILLA DE ALGODÓN (6). ESTE PRODUCTO SE PROBÓ DURANTE DOS AÑOS EN NIÑOS PEQUEÑOS BAJO CON

TROL MÉDICO, OBSERVÁNDOSE UNA DISMINUCIÓN DE LA DESHUTRICIÓN PROTEÍCA QUE EXISTÍA EN ELLOS. EL ÚNICO PROBLEMA QUE RESTRINGE EL USO DE LA HARINA DE ALGODÓN COMO FUENTE PROTEÍCA, ES QUE CONTIENE UN COMPUESTO NATURAL, QUE RESULTA TÓXICO PARA ANIMALES MONOGÁSTRICOS; ESTE COMPUESTO ES EL GOSIPOL.

EL INCONVENIENTE DE ESTE COMPUESTO ES QUE SI SE INGIERE EN DOSIS NO CONTROLADAS, PUEDE OCASIONAR DAÑOS IRREVERSIBLES, YA QUE EL GOSIPOL SE VA ACUMULANDO EN ÓRGANOS COMO HÍGADO, BAZO, CORAZÓN, ETC. SIN EMBARGO RECIENTEMENTE A DOSIS SUBTÓXICAS SE HA OBSERVADO UN EFECTO ANTIFERTILIZANTE QUE EN ESTE CASO PUEDE SER REVERSIBLE AL DEJAR DE INGERIRSE.

DADOS LOS ANTECEDENTES ANTERIORES SE PENSÓ EN ELABORAR DOS DIETAS EN LAS CUALES LA FUENTE DE PROTEÍNA SERÍA LA SEMILLA DE ALGODÓN, Y CUYO CONTENIDO DE GOSIPOL ESTUVIERE POR ABAJO DEL NIVEL TÓXICO, UNA DE LAS CUALES TENDRÁ UN EXCESO DE VITAMINA E, CON EL FIN DE COMPROBAR SI ESTA VITAMINA INVOLUCRADA Y AMPLIAMENTE ESTUDIADA EN LOS PROCESOS DE REPRODUCCIÓN TENDRÁ UNA ACCIÓN PROTECTORA CONTRA EFECTOS ANTIFERTILIZANTES DEL GOSIPOL. A LOS ANIMALES ASÍ TRATADOS SE LES DETERMINARÁ LA CANTIDAD DE GOSIPOL ACUMULADO EN ÓRGANOS Y FLUIDOS DURANTE LAS DIECISEIS SEMANAS DE TRATAMIENTO Y DESPUÉS DE OCHO SEMANAS DE RECUPERACIÓN.

OBJETIVO.

CONOCER LA DISTRIBUCIÓN Y EL DEPÓSITO DE GOSIPOL EN EL ORGANISMO DE LA RATA ALIMENTADA CON DIETAS A BASE DE HARINA DE ALGODÓN COMPLETA CUYO CONTENIDO DE GOSIPOL ESTUVIERA A NIVELES SUBTÓXICOS, CON EL OBJETO DE EVALUAR EL RIESGO POTENCIAL CUANDO SE ADMINISTRA LA HARINA DE ALGODÓN POR UN PERÍODO LARGO.

GENERALIDADES.

CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL GOSIPOL.

LA EXTRACCIÓN DEL GOSIPOL FUÉ HECHA POR WITHERS Y CARRUTH (1915), CUYO PROCEDIMIENTO CONSISTE EN EXTRAER DE LA ALMENDRA DE LA SEMILLA DE ALGODÓN MOLIDA, MEDIANTE UN HERVOR DE ÉTER DE PETRÓLEO LA MAYOR PARTE DEL ACEITE, SEGUIDO POR UNA EXTRACCIÓN DE GOSIPOL DEL ACEITE RESIDUAL MEDIANTE UNA DESTILACIÓN DEL ÉTER LIBRE DE PERÓXIDO. LA ADICIÓN DE ÁCIDO ACÉTICO A LA SOLUCIÓN CONCENTRADA DE ÉTER DA LUGAR A LA SEPARACIÓN DE GOSIPOL ÁCIDO ACÉTICO COMO CRISTALES OSCUROS. (2).

EL GOSIPOL ÁCIDO ACÉTICO ES UN COMPLEJO UNIDO ENTRE UNA MOLÉCULA DE ÁCIDO ACÉTICO, EL ÁCIDO ACÉTICO PUEDE SER REMOVIDO SENCILLAMENTE DEJANDO EN ÉTER LA SOLUCIÓN DE GOSIPOL ÁCIDO ACÉTICO Y EVAPORANDO EN CONTACTO EN UNA CAPA ACUOSA, EL GOSIPOL SE SEPARA COMO UN SÓLIDO CRISTALINO. (5).

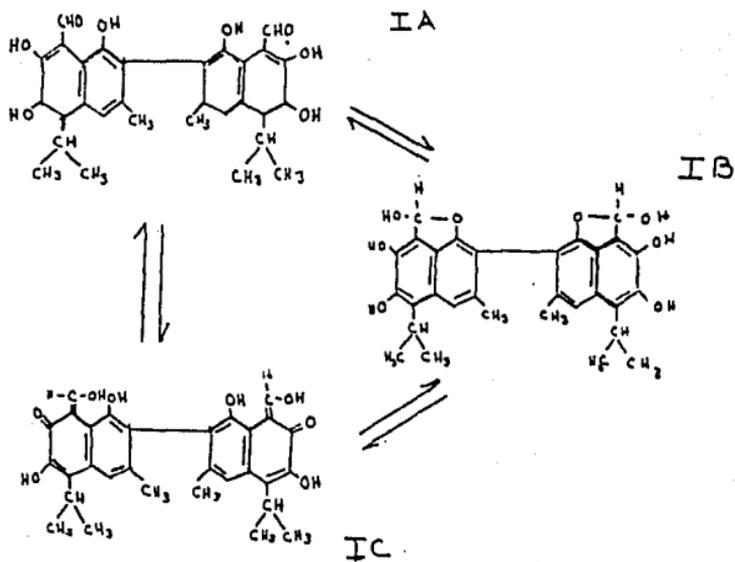
CLARK MARCA LA IDENTIDAD DEL PRODUCTO DE ANILINA Y D GOSIPOL COMO DIANILINOGOSIPOL, FORMADO ANILINA Y GOSIPOL DE SEMILLAS CRUDAS Y SUGIRIÓ ABANDONAR EL TÉRMINO DE D GOSIPOL Y USAR EL TÉRMINO DE GOSIPOL LIGADO PARA INDICAR LA SUSTANCIA NO EXTRAÍBLE PRESENTE EN LA SEMILLA DE ALGODÓN. EL TÉR

MINO GOSIPOL LIBRE ES USADO PARA REFERIRSE AL GOSIPOL QUE PUEDE SER EXTRAÍDO, A PARTIR DE LA SEMILLA DE ALGODÓN O HARINA DE ALGODÓN CON ACETONA ACUOSA, EL GOSIPOL TOTAL SE OBTIENE CUANDO LA HARINA ES CALENTADA PRIMERO CON ÁCIDO OXÁLICO Y DE ESTA MANERA PODEMOS EXTRAER TANTO EL LIGADO COMO EL LIBRE (1).

GRACIAS A LAS INVESTIGACIONES LLEVADAS A CABO SOBRE DICHO COMPUESTO, SE HA OBTENIDO SUS CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS Y SE HA DETERMINADO SU PESO MOLECULAR DE 518 Y SU ESTRUCTURA MOLECULAR QUE SE MUESTRA EN LA SIGUIENTE GRÁFICA (27).

LA POSTULACIÓN DE TRES FORMAS TAUTOMÉRICAS DEL GOSIPOL FUE NECESARIA, DEBIDO A LOS NUMEROSOS PRODUCTOS DE REACCIÓN EN CONTRADOS EN EL ESTABLECIMIENTO DE LA ESTRUCTURA DEL GOSIPOL Y SUS CARACTERÍSTICAS. LA ESTRUCTURA I A PRESENTA EL TAUTÓMERO HIDROXIALDEHÍDO, LA I B EL LACTOL TAUTÓMERO (HEMIACETAL) Y LA I C EL TAUTÓMERO CARBONIL CÍCLICO (QUINOIDE). SIENDO LA I A LA FORMA MÁS ESTABLE.

FORMAS TAUTOMÉRICAS DEL GOSIPOL



GRÁFICA 1.

PROPIEDADES QUÍMICAS DEL GOSIPOL.

LA FÓRMULA MOLECULAR PROPUESTA PARA EL GOSIPOL ES:

$C_{30}H_{30}O_8$  QUE EQUIVALE A 1,1',6,6',7,7' HEXAHIDROXI 5,5' DI ISOPROPIL 3,3' DIMETIL (2,2', BINAFATLENO 8,8', DICARBOXY-ALDENÍDO. ESTE COMPUESTO TIENE UN PESO MOLECULAR DE 528,54 Y EL UN POLIMÓRFICO YA QUE CUANDO SE HA CRISTALIZADO A PARTIR DE ÉTER SU PUNTO DE FUSIÓN ES DE 184°C, A PARTIR DE CLOROFORMO ES DE 199°C. (17).

SE HAN DESCRITO TRES DERIVADOS DEL GOSIPOL QUE SON: EL COMPUESTO FORMADO POR LA PÉRDIDA DE DOS MOLÉCULAS DE AGUA LLAMADO ANHIDROGOSIPOL  $C_{30}H_{26}O_6$ , EL COMPUESTO FORMADO POR LA ACCIÓN DE UN ÁLCALI FUERTE QUE PRESENTA DOS ÁTOMOS DE OXÍGENO Y DE CARBONO MENOS QUE EL GOSIPOL LLAMADO APOGOSIPOL  $C_{28}H_{30}O_6$  Y EL COMPUESTO FORMADO POR ANILINA Y GOSIPOL LLAMADO DIANILINA GOSIPOL  $C_{42}H_{40}O_6N_2$ . (17).

LA MOLÉCULA DE GOSIPOL CONTIENE DOS GRUPOS ALDEHÍDO Y SEIS GRUPOS HIDROXIDOS QUE SON FUERTEMENTE ÁCIDOS Y REACCIONAN FÁCILMENTE CON AMINAS PARA FORMAR BASES DE SCHIFF. EL GOSIPOL TAMBIÉN FORMA QUELATOS CON CATIONES. ES UN COMPUESTO INSOLUBLE EN AGUA PERO FORMA SALES EN SOLUCIONES ALCALINAS Y ES SOLUBLE EN LA MAYORÍA DE LOS SOLVENTES ORGÁNICOS. DEBIDO A QUE EXISTEN MUCHOS PRODUCTOS DE REACCIÓN SE HAN

PROPUESTO TRES FORMAS TAUTOMÉRICAS DEL GOSIPOL: ALDEHÍDO, HEMIACETAL Y QUINOIDE, SIENDO EL ALDEHÍDO LA FORMA PREDOMINANTE EN MUCHOS COMPUESTOS ORGÁNICOS (5).

#### TOXICIDAD DEL GOSIPOL.

LA PROTEÍNA DE LAS DIETAS PARA ANIMALES MONOGÁSTRICOS PROVIENE EN SU MAYOR PARTE DE LA HARINA DE SEMILLA DE ALGODÓN PERO SE REDUCE EL CRECIMIENTO DE LOS ANIMALES OBSERVÁNDOSE TAMBIÉN UNA ALTA MORTALIDAD. PARA DISMINUIR LA TOXICIDAD DEL GOSIPOL EN LA HARINA DE ALGODÓN SE HACE POR MEDIO DE UN PROCESO DE CALENTAMIENTO EN EL CUAL LAS GLÁNDULAS DE LA RESINA SE ROMPEN Y EL GOSIPOL CONTENIDO SE ESPARCE SOBRE LA PROTEÍNA DE LA SEMILLA. EL GOSIPOL SE UNE PRINCIPALMENTE A LA PROTEÍNA EN ESTE CASO SERÍA AL AMINOÁCIDO LISINA POR SU PARTE MÁS INESTABLE, QUE ES EL ALFA AMINO, REDUCIENDO LA LIBERACIÓN DE NITRÓGENO Y LAS PROPIEDADES NUTRITIVAS DE LA PROTEÍNA, POR LO TANTO SE REDUCE LA CALIDAD NUTRICIONAL (10).

LA TOXICIDAD DEL GOSIPOL EN ANIMALES MONOGÁSTRICOS SE CLASIFICA DE LA SIGUIENTE MANERA:

AGUDA	EN LA QUE EXISTE PARO CARDÍACO
SEGUNDA	EN LA QUE HAY EDEMA PULMONAR
CRÓNICA	CUANDO EL ANIMAL TIENE SÍNTOMAS DE DESNUTRICIÓN Y LE CAUSA LA MUERTE

SE HAN REALIZADO ESTUDIOS CON ANIMALES Y LA SENSIBILIDAD A LA TOXICIDAD DEL GOSIPOL SE MANIFESTÓ EN ORDEN DECRECIENTE EN LAS SIGUIENTES ESPECIES: CERDOS, POLLOS, CONEJOS, RATONES, Y RATAS (25).

EN ESTUDIOS CON ANIMALES RUMIANTES SE HA VISTO QUE EL GOSIPOL DE LA DIETA, NO PRODUCE NINGÚN EFECTO TÓXICO DEBIDO A QUE LA FERMENTACIÓN QUE SE LLEVA A CABO EN EL RUMEN VUELVE INERTE AL GOSIPOL.

CON BASE A UNA DOSIS ORAL SIMPLE, SE DETERMINÓ QUE LA DOSIS LETAL MEDIA LD<sub>50</sub> PARA RATAS, ES DE 2,400 A 3,340 MG/KG CUANDO SE ADMINISTRA EN AGUA Y ALREDEDOR DE 10% MÁS TÓXICO CUANDO SE ADMINISTRA EN ACEITE (1).

LA ABSORCIÓN, DISTRIBUCIÓN Y EXCRECIÓN DEL GOSIPOL YA HABÍA SIDO ESTUDIADA POR ABOU-DONIA Y COLABORADORES EN 1970, QUIENES ENCONTRARON QUE LA VIDA MEDIA DEL GOSIPOL EN EL TRACTO INTESTINAL ES DE 9.6 HORAS, LO QUE INDICA UNA LENTA ABSORCIÓN. SE ADMINISTRÓ GOSIPOL MARCADO CON <sup>14</sup>C A RATAS Y SE VIÓ QUE TARDABAN HASTA DIECINUEVE DÍAS EN ELIMINAR EL 97.24% DEL GOSIPOL INGERIDO, A TRAVÉS DE VÍAS DE ELIMINACIÓN, LO QUE NOS INDICA QUE PUEDE HABER UNA ACUMULACIÓN EN EL ORGANISMO.

TONE Y JENSEN EN 1976 MIDIERON EL CONTENIDO DEL GOSIPOL EN VARIOS ÓRGANOS OBSERVÁNDOSE QUE LA MAYOR PARTE ES DECIR LA MAYOR CONCENTRACIÓN SE ENCONTRABA EN EL HÍGADO, SIN EMBARGO EN TESTÍCULO LA CANTIDAD DE GOSIPOL ERA MÍNIMA. ESTO ÚLTIMO ES INTERESANTE DEBIDO A QUE RECIENTEMENTE SE HA DESCRITO UN EFECTO ANTIFERTILIZANTE DEL GOSIPOL (30).

LOS NIVELES ALTOS DE GOSIPOL COMBINADO EN SANGRE SON DEBIDOS A QUE EL GOSIPOL REACCIONA RÁPIDAMENTE CON LA ALBÚMINA DEL PLASMA SANGUÍNEO. ESTO INTERFIERE GRAVEMENTE CON LA CAPACIDAD DEL TRANSPORTE DE OXÍGENO EN LA SANGRE, LO CUAL PUEDE CAUSAR FALLAS EN EL SISTEMA CIRCULATORIO Y EN LOS ÚLTIMOS DE LOS CASOS, UNA HIPERTROFÍA DEL CORAZÓN Y MUERTE. EL GOSIPOL INHIBE LA HEMATOPOYESIS EN LAS RATAS, LO CUAL TRAE COMO RESULTADO UNA DISMINUCIÓN DE ERITROCITOS (18).

EL USO DE LA HARINA DE SEMILLA DE ALGODÓN EN LA ALIMENTACIÓN DE ANIMALES MONOGÁSTRICOS ES TÓXICO POR LAS CONSECUENCIAS QUE EL GOSIPOL PUEDE PRESENTAR.

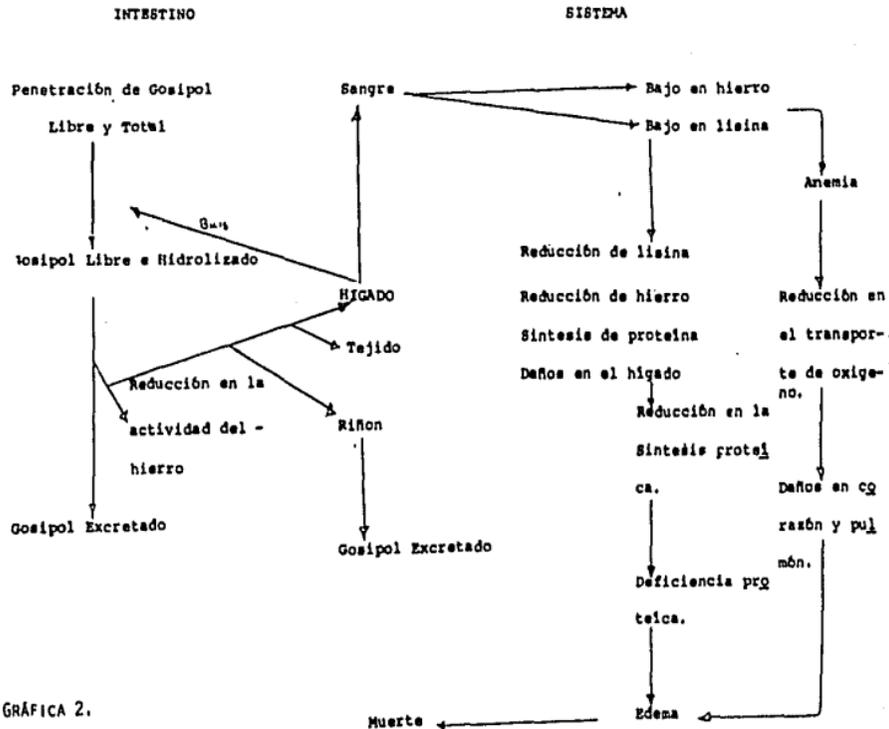
MUCHOS INVESTIGADORES HAN ESPECULADO SOBRE LA NATURALEZA ACUMULATIVA DE LA TOXICIDAD DEL GOSIPOL Y LOS POSIBLES MECANISMOS DE LA ACCIÓN DEL GOSIPOL, SIN ESTABLECER CLARAMENTE UN VERDADERO MECANISMO DE ESTA TOXICIDAD QUE PRESENTA EL GOSIPOL (30).

VARIOS INVESTIGADORES COMO ATHENS, CARTWRIGHT Y SMITH, ATRIBUYEN LA TOXICIDAD DE ESTE COMPUESTO A LA INHIBICIÓN DE LA CONVERSIÓN DE OXIHEMOGLOBINA EN LA SANGRE Y TAMBIÉN 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 PRODUCEN EDEMA PULMONAR, ANEMIA HEMOLÍTICA Y FALLO CARDÍACO. OTROS SÍNTOMAS ANTES MENCIONADOS COMO SON ANOREXIA, DEPRESIÓN DEL CRECIMIENTO Y FINALMENTE LA MUERTE (30).

BRESSANI Y COLABORADORES PROPUSIERON QUE LA TOXICIDAD DEL GOSIPOL, TIENE EFECTOS ANTIFISIOLÓGICOS, LOS CUALES NO SE PUEDE EXPLICAR EN BASE A UN FUNDAMENTO EL NIVEL DE LA ACTIVIDAD METABÓLICA DEL GOSIPOL. EN LA GRÁFICA 2 ESTOS AUTORES PROPONEN UN ESQUEMA DE LA ACCIÓN FISIOLÓGICA TÓXICA DEL GOSIPOL. EN ESTA GRÁFICA SE PUEDE VER QUE DESPUÉS DE HABER INGERIDO EL GOSIPOL EN DIETAS, DURANTE VARIAS SEMANAS Y EN CONCENTRACIONES ALTAS, LAS CONSECUENCIAS DE LA TOXICIDAD EN EL ORGANISMO DE LA RATA, SERÍAN LAS SIGUIENTES: LA PENETRACIÓN DE GOSIPOL LIBRE Y TOTAL LOS CUALES SON ARRASTRADOS POR LA BILIS, DONDE EL GOSIPOL TOTAL SE TRANSFORMA A GOSIPOL LIBRE E HIDROLIZADO; PARTE DE ESTE GOSIPOL ES EXCRETADO POR VÍAS FECAL, EL RESTANTE LLEGA A VARIOS ÓRGANOS COMO EL HÍGADO, RIÑÓN Y VARIOS TEJIDOS ADIPOSOS POR MEDIO DE LA

SANGRE. EN EL HÍGADO BAJA LA ACTIVIDAD DEL HIERRO DEBIDO A LA FORMACIÓN DE QUELATOS CAUSANDO ANEMIA, LA CUAL PROVOCA UNA REDUCCIÓN EN EL TRANSPORTE DE OXÍGENO, TENIENDO COMO CONSECUENCIA DEFICIENCIAS CARDÍACAS Y PULMONARES CON LA OBSTRUCCIÓN DE VASOS LINFÁTICOS Y FORMACIÓN DE QUELATOS. DEBIDO A QUE EL GOSIPOL SE UNE CON LOS GRUPOS AMINO DE LA LISINA SE PRODUCE UNA DEFICIENCIA EN LAS PROTEÍNAS, POR LO CUAL BAJA EL NIVEL DE LISINA, OCASIONANDO PÉRDIDA DE NITRÓGENO EN LA ORINA. LA ACUMULACIÓN DE ESTOS DAÑOS; LA REDUCCIÓN EN LA SÍNTESIS DE PROTEÍNA, PRODUCE FALLAS EN EL CORAZÓN, PULMÓN, Y FINALMENTE LLEGA A OCASIONAR LA MUERTE.

# ACCIÓN FISIOLÓGICA TÓXICA DEL GOSIPOL



GRÁFICA 2.

EFFECTO ANTIFERTILIZANTE DEL GOSIPOL.

EN 1978 SE OBSERVÓ EN LA REPÚBLICA POPULAR DE CHINA, CUANDO SE REALIZABA UN ESTUDIO EPIDEMOLÓGICO QUE EN CIERTAS ÁREAS DE LA POBLACIÓN HABÍA MÁS CASOS DE INFERTILIDAD QUE LOS ESPERADOS, ESTO DIÓ LUGAR A POSTERIORES INVESTIGACIONES, TENIENDO COMO POSIBLE CAUSANTE DE ESTE EFECTO LA INGESTIÓN DEL ACEITE DE SEMILLA DE ALGODÓN, CON EL QUE PREPARABAN SUS ALIMENTOS; COMPROBÁNDOSE DESPUÉS QUE LA PRESENCIA DEL GOSIPOL EN EL ACEITE DE LA SEMILLA DE ALGODÓN ERA EL CAUSANTE DE ESTE EFECTO ENCONTRADO, DANDO ESTO LUGAR AL INICIO DE ESTUDIOS EN ANIMALES DE LABORATORIO. ESTOS ESTUDIOS SE HICIERON UTILIZANDO GOSIPOL PURO EN TRES DIFERENTES TIPOS DE PREPARACIÓN QUE FUERON; GOSIPOL, ÁCIDO ACÉTICO GOSIPOL Y ÁCIDO FÓRMICO GOSIPOL PREPARADOS PARA ESTUDIOS CLÍNICOS, CON EL FIN DE OBSERVAR CUÁL DE ESTOS COMPUESTOS TENÍA UN EFECTO MARCADO SOBRE LA FERTILIDAD, VIÉNDOSE QUE EL QUE TENÍA EFECTOS ANTIFERTILIZANTE A DOSIS BAJAS ERA EL ÁCIDO ACÉTICO GOSIPOL. - CON DOSIS DE 15 A 40 MG/KG/DÍA DE ÁCIDO ACÉTICO GOSIPOL DURANTE DOS O CUATRO SEMANAS ADMINISTRADAS A RATAS MACHO SE LOGRA LA INFERTILIDAD. LA RAPIDEZ CON QUE SE LOGRA LA INFERTILIDAD DEPENDE DE LA DOSIS APLICADA, Y DEL TIEMPO DE LA ADMINISTRACIÓN, TAMBIÉN DE ESTO DEPENDE EL TIEMPO DE LA RECUPERACIÓN DE LA FERTILIDAD, YA QUE ESTA EMPIEZA A RECUPERARSE UNA VEZ QUE SE DEJA DE INGERIR EL GOSIPOL, O SEA,

QUE TIENE UN EFECTO ANTIFERTILIZANTE REVERSIBLE (25).

POR EXÁMENES DE MICROSCOPIA SE OBSERVÓ QUE DESPUÉS DE LA ADMINISTRACIÓN DEL GOSIPOL TENÍA LUGAR UNA SERIE DE CAMBIOS CITOLÓGICOS EN EL EPITELIO SEMINÍFERO DE LOS TESTÍCULOS DE LAS RATAS, ALGUNOS DE ESTOS CAMBIOS FUERON HINCHAMIENTO DE VACUOLAS EN EL NÚCLEO DE LAS ESPERMÁTIDAS, CAMBIOS COMO PICNOSIS, CARIORREXIS O CITOLISIS SE PRESENTABA TANTO EN ESPERMÁTIDAS COMO EN ESPERMATOCITOS. SE OBSERVÓ EXFOLIACIÓN DE LAS CÉLULAS DEL EPITELIO GERMINAL Y LA FORMACIÓN DE CÉLULAS GIGANTES MULTINUCLEADAS DERIVADAS DE ESPERMÁTIDAS Y ESPERMATOCITOS.

EL EPITELIO GERMINAL SUFRIÓ UNA REDUCCIÓN PROGRESIVA EN SUS CAPAS CELULARES Y UNA ASINCRONÍA EN LA ASOCIACIÓN CELULAR EN LOS TÚBULOS, SOLO UNA CAPA DE CÉLULAS DE SERTOLI Y ESPERMATOGINIAS QUEDÓ EN LOS TÚBULOS.

EN EL EPIDÍDIMO SE ENCONTRARON NUMEROSOS ESPERMATOZOIDES MUERTOS, MUCHOS DE LOS CUALES TENÍAN CABEZAS Y COLAS SEPARADAS, LA CUENTA DE ESPERMATOZOIDES FUE DISMINUYENDO HASTA LLEGAR A LA AZOOSPERMIA (25).

EL GOSIPOL FUÉ CLÍNICAMENTE UTILIZADO POR PRIMERA VEZ EN 1978 COMO UN AGENTE ANTIFERTILIZANTE MASCULINO CUANDO FUE

ADMINISTRADO A CUATRO MIL HOMBRES CHINOS SALUDABLES, POR PERÍODOS MAYORES DE SEIS MESES, LLEGANDO A ALCANZAR ALGUNOS HASTA CUATRO AÑOS EN TRATAMIENTO. LA DOSIS USADA FUÉ DE 20 MG/DÍA DURANTE LOS PRIMEROS DOS MESES DE TRATAMIENTO PARA PRODUCIR LA INFERTILIDAD Y DESPUÉS SE MANTUVIERON CON UNA DOSIS DE 220 MG/MES EN DOSIS DIVIDIDAS (25).

#### METABOLISMO DEL GOSIPOL.

##### EFFECTOS FISIOLÓGICOS DEL GOSIPOL.

NO FUÉ SINO HASTA WITHERS Y CARRUTH QUE ESTABLECIERON QUE EL GOSIPOL ES EL FACTOR TÓXICO DE LA SEMILLA DE ALGODÓN Y A PARTIR DE ENTONCES SE ESTUDIÓ MÁS SOBRE LA TOXICIDAD DE ESTE COMPUESTO. LA PRESENCIA DE GOSIPOL EN LOS CONCENTRADOS PROTEÍNICOS DE LA SEMILLA DE ALGODÓN PRESENTA PROBLEMAS SEPARADOS Y DISTINTOS; EL PRIMERO DE ESTOS ES QUE LA PRESENCIA DE ALTOS NIVELES DE GOSIPOL CAUSARON EFECTOS FISIOLÓGICOS DESFAVORABLES, EL SEGUNDO FACTOR ES QUE LA REACCIÓN QUÍMICA ENTRE EL GOSIPOL Y LAS PROTEÍNAS TIENE COMO RESULTADO UNA REDUCCIÓN EN LA CALIDAD PROTEICA.

BRESSANI Y COLABORADORES ESTUDIARON LA ABSORCIÓN Y LA EXCRECIÓN DEL GOSIPOL EN PERROS. LOS RESULTADOS INDICAN QUE EN LOS PERROS EL GOSIPOL ES EXCRETADO PRINCIPALMENTE POR -

VÍA FECAL (7).

WORONICK Y GRAU, OBSERVARON QUE EN POLLOS, EL GOSIPOL SE ENCONTRABA EN UNA MAYOR CONCENTRACIÓN EN HÍGADO, MÚSCULO, SAN Y RIÑONES (7) (2).

ABOU DONIA Y COLABORADORES, ENCONTRARON QUE PEQUEÑAS CANTIDADES DE GOSIPOL SON ELIMINADAS POR LA ORINA Y LA MAYOR PARTE POR VÍA FECAL, Y QUE LOS MAYORES DEPÓSITOS DE ESTE COMPUESTO SE ENCONTRABA EN HÍGADO, MÚSCULO, RIÑÓN Y SANGRE (1) (7).

EL SIGNIFICADO DE LA BILIS EN EL METABOLISMO DEL GOSIPOL. ESTUDIOS SOBRE LA ELIMINACIÓN METABÓLICA DEL GOSIPOL CON  $C^{14}$  HAN INDICADO QUE LA EXCRECIÓN EN EL INTESTINO VÍA LA BILIS ES EL CAMBIO PRINCIPAL POR EL QUE EL GOSIPOL ABSORBIDO ES ELIMINADO DEL CUERPO EN POLLOS, GALLINAS, RATAS Y CERDOS (2) (8).

ESTOS RESULTADOS SUGIEREN QUE EL GOSIPOL Y SUS METABOLITOS SON TRANSFERIDOS DE LA SANGRE A LA BILIS. APARENTEMENTE EL GOSIPOL EMERGE DEL HÍGADO CON LA BILIS QUE PASA JUNTO CON ESTA AL DUODENO. PARTE DEL GOSIPOL ES REABSORBIDO POR INTESTINO DELGADO. AMBOS CAMINOS INVOLUCRAN UN DECREMENTO GRADUAL POR LAS HECEs. ESTOS RESULTADOS DEMUESTRAN QUE LA MA

YORÍA DEL CARBONO MARCADO  $C^{14}$  ABSORBIDO ES EXCRETADO EN LA BILIS. LA ALTA VELOCIDAD DE EXCRECIÓN DEL GOSIPOL POR LA BILIS SE EXPLICA DEBIDO AL HECHO DE QUE LOS COMPUESTOS DE ALTO PESO MOLECULAR, (MAS DE 300GR/MOL) Y CON DOS O MAS ANILLOS AROMÁTICOS TIENDEN A SER EXCRETADOS POR LA BILIS (1) (30).

#### ACUMULACIÓN DE GOSIPOL EN LOS TEJIDOS.

SHARMA Y COLABORADORES DEMOSTRARON QUE LOS NIVELES DE GOSIPOL EN LOS ÓRGANOS DE LOS CERDOS ALIMENTADOS CON GOSIPOL MARCADO CON  $C^{14}$  ESTABA INVERSAMENTE RELACIONADOS AL NIVEL DE PROTEÍNA Y DIRECTAMENTE RELACIONADO AL NIVEL DE GOSIPOL EN LA DIETA Y A LA DURACIÓN EN QUE LAS DIETAS FUERON ADMINISTRADAS. SUGIRIERON QUE EN UN ALTO NIVEL DE PROTEÍNA EN LA DIETA PODRÍA AFECTAR LA ACUMULACIÓN DE GOSIPOL EN LOS ÓRGANOS, PROPORCIONANDO UN GRAN NÚMERO DE GRUPOS EPSILON LIBRES LA LISINA QUE CON EL GOSIPOL SE PUEDE COMBINAR EN EL TRACTO DIGESTIVO, Y DESPUÉS SER EXCRETADO EN LAS HECEAS COMO GOSIPOL COMBINADO Y FACILITANDO EL METABOLISMO Y DESTOXIFICACIÓN DEL GOSIPOL MARCADO CON CARBÓN CATORCE, LOS ÓRGANOS QUE ACUMULARON GRANDES CANTIDADES DE RADIOACTIVIDAD FUERON AQUELLOS QUE SUFRIERON SEVEROS DAÑOS HISTOLÓGICOS POR TOXICIDAD, ESTE ESTUDIO DEMOSTRÓ UN GRAN DAÑO EN HÍGADO, CORAZÓN, RIÑONES, PULMONES, Y BAZO (2) (7).

LA RADIOACTIVIDAD RELATIVAMENTE ALTA EN MÚSCULO (ESQUELÉTICO Y CARDÍACO) A PESAR DE NO HABER DAÑO FÍSICO, INDICAN - QUE TAMBIÉN HAY ACUMULACIÓN DE GOSIPOL EN ESTOS TEJIDOS. ESTA ACUMULACIÓN PODRÍA EXPLCIARSE CON LOS CAMBIOS DEGENERATIVOS EN EL MÚSCULO ESQUELÉTICO, ESTUDIO LLEVADO A CABO EN CERDOS QUE MURIERON DESPUÉS DE RECIBIR UNA DIETA QUE CONTE NÍA GOSIPOL LIBRE.

EN SANGRE TAMBIÉN SE ENCONTRÓ UNA CONCENTRACIÓN ALTA DE RADIOACTIVIDAD, DEBIDO AL CARÁCTER LIPOFÍLICO DEL GOSIPOL QUE PUEDE PENETRAR POR LA MEMBRANA DE LOS ERITROCITOS POR DIFUSIÓN. EL ALTO NIVEL DE GOSIPOL COMBINADO VA DE ACUERDO CON EL DESCUBRIMIENTO DE QUE EL GOSIPOL REACCIONA RÁPIDAMENTE CON LA ALBÚMINA DE LA SANGRE (7).

LA ALTA RADIOACTIVIDAD EN PULMONES Y RIÑONES SUGIERE QUE ESTOS TEJIDOS ESTÁN TAMBIÉN INVOLUCRADOS CON EL METABOLISMO DEL GOSIPOL. NO ES SORPRENDENTE ENCONTRAR RADIOACTIVIDAD RELATIVAMENTE ALTA EN TEJIDOS ADIPOSOS, DEBIDO, A QUE EL GOSIPOL ES LIPOSOLUBLE (3) (7).

#### EFFECTO DE LA VITAMINA E SOBRE LA REPRODUCCIÓN.

LA VITAMINA E FUE RECONOCIDA POR PRIMERA VEZ COMO UN FACTOR PRESENTE EN LOS ACEITES VEGETALES QUE RESTAURA LA FERTILI-

DAD DE LAS RATAS ALIMENTADAS EXCLUSIVAMENTE CON LECHE DE VACA Y QUE DE OTRO MODO SE MUESTRAN INCAPACES DEL ESTADO DE GESTACIÓN. SE AISLÓ DEL GERME DE TRIGO Y SE LE ASIGNÓ EL NOMBRE DE TOCOFEROL. EN LAS PLANTAS SE HAN ENCONTRADO VARIOS TOCOFEROLES DIFERENTES CON ACTIVIDAD DE VITAMINA E; EL MÁS ACTIVO Y ABUNDANTE ES EL ALFA TOCOFEROL, ES UNA SUSTANCIA LIPOSOLUBLE, IMPRESCINDIBLE PARA LA REPRODUCCIÓN DE LAS RATAS (3).

ALGUNAS PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DE LOS TOCOFEROLES SON; (34).

- 1) ACEITES VISCOSOS DE COLOR AMARILLO PÁLIDO.
- 2) LIPOSOLUBLES; SE DISUELVEN CON FACILIDAD EN LA MAYORÍA DE LOS SOLVENTES ORGÁNICOS.
- 3) SE OXIDAN RÁPIDAMENTE EN PRESENCIA DE ÁLCALI, PERO SON ESTABLES EN ÁCIDO.
- 4) ESTABLES A LA LUZ VISIBLE, PERO SE DESTRUYEN CON LUZ ULTRAVIOLETA.
- 5) ESTABLES AL CALOR Y AL ÁLCALI EN AUSENCIA DE AGENTES OXIDANTES.
- 6) ANTIOXIDANTES EFECTIVOS DEBIDO AL GRUPO HIDROXIFENÓLICO LIBRE.
- 7) FÁCILMENTE OXIDABLE POR VARIOS AGENTES QUÍMICOS, INCLU-

IDOS LOS IONES FÉRRICO, AÚRICO, CÉRICO Y NITRATO.

ES DIFÍCIL DETERMINAR LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LOS TOCOFEROLES DEBIDO AL GRAN NÚMERO DE ELLOS Y A SU SIMILITUD QUÍMICA. UNA DE LAS RAZONES ES QUE SU DEFICIENCIA PRODUCE EN LAS RATAS MACHOS Y HEMBRAS OTROS MUCHOS SÍNTOMAS, ADEMÁS DE LA ESTERILIDAD, COMO LA DEGENERACIÓN DE LOS RIÑONES, LA APARICIÓN DE PIGMENTOS PARDOS EN LOS DEPÓSITOS LIPÍDICOS, LA NECROSIS DEL HÍGADO Y LA Distrofía o merma de los músculos esqueléticos, PRINCIPALMENTE EN LOS ANIMALES HERBÍVOROS. NO SE SABE SI LA DEFICIENCIA DEL TOCOFEROL PROVOCA LA ESTERILIDAD EN EL SER HUMANO (34) (35).

#### MATERIAL Y MÉTODOS.

SE UTILIZÓ PARA ESTE TRATAMIENTO, SEMILLA DE ALGODÓN COMPLETA, LA CUAL FUE OBTENIDA DE LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS BALANCEADOS DE MÉXICO. (ALBAMEX), S.A. DE C.V. Y P.E.

LA SEMILLA DE ALGODÓN CRUDA SE LIMPIÓ Y POSTERIORMENTE SE MOLTIÓ EN UN MOLINO THOMAS WILEY, MODELO No. 4, UTILIZANDO UNA MALLA DE 2 MM.

CON LA HARINA ASÍ OBTENIDA SE PROCEDIÓ A EFECTUAR LOS SIGUIENTES ANÁLISIS, QUE SE DIVIDIERON EN PRUEBAS QUÍMICAS Y

PRUEBAS BIOLÓGICAS.

PRUEBAS QUÍMICAS.

ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DE LA HARINA DE ALGODÓN COMPLETA, -  
LLEVADOS A CABO POR LOS MÉTODOS OFICIALES DEL A.O.A.C. (14).

DETERMINACIÓN DE GOSIPOL LIBRE EN LA HARINA DE ALGODÓN COM-  
PLETA, EN LAS DIETAS ELABORADAS Y EN LOS ÓRGANOS REMOVIDOS  
DE LOS ANIMALES QUE SE SACRIFICARON (32) DE ACUERDO A LAS TÉC-  
NICAS DE LIENER, I.E. LA DETERMINACIÓN DE GOSIPOL EN LAS DIE-  
TAS SE REALIZÓ AL EMPEZAR CADA TRATAMIENTO CON LOS ANIMALES.

A) DETERMINACION DE HUMEDAD

FUNDAMENTO.

LA BASE DE ESTA DETERMINACIÓN ES LA PÉRDIDA DE AGUA DE LA -  
MUESTRA POR EFECTO DE TEMPERATURA. EL DATO SE OBTIENE POR  
DIFERENCIAS DE PESO ENTRE LA MUESTRA HÚMEDA Y LA MUESTRA -  
SECA.

MATERIAL.

ESTUFA DE VACÍO

BALANZA THELCO

BALANZA ANALÍTICA

DESECADOR

PESA FILTROS O CHAROLAS DE ALUMINIO.

PROCEDIMIENTO.

LOS PESA FILTROS O CHAROLAS DE ALUMINIO SE PONEN A SECAR EN LA ESTUFA DE VACÍO DURANTE DOS O MÁS HORAS, HASTA OBTENER UN PESO CONSTANTE. EN LAS CHAROLAS A PESO CONSTANTE SE PESAN DE 3 A 5 GRs. DE MUESTRA Y SE LLEVA A LA ESTUFA DE VACÍO A UNA TEMPERATURA DE 60° A 70° C DURANTE CINCO HORAS. UNA VEZ TRANSCURRIDO EL TIEMPO, SE SECAN LAS CHAROLAS Y SE COLOCAN EN EL DESECADOR HASTA ALCANZAR LA TEMPERATURA AMBIENTE Y SE PESAN.

CÁLCULOS.

$$\% \text{ HUMEDAD } \left( \frac{A - B}{A} \right) \times 100$$

DONDE A PESO DE LA MUESTRA HÚMEDA

B PESO DE LA MUESTRA SECA

3) DETERMINACION DE CENIZAS

FUNDAMENTO.

PRIMERO SE LLEVA A CABO LA DESTRUCCIÓN DE LA MATERIA ORGÁ-

NICA PARA CALCINAR POSTERIORMENTE HASTA OBTENER CENIZAS.

MATERIAL.

MUFLA  
BALANZA  
DESECADOR  
CRISOLES DE PORCELANA  
TRIPIÉ METÁLICO  
TRIÁNGULO DE PORCELANA  
MECHERO

PROCEDIMIENTO.

SE PESAN DE 3 A 5 GRs. DE MUESTRA EN LOS CRISOLES DE PORCELANA PUESTOS PREVIAMENTE A PESO CONSTANTE. LOS CRISOLES - CON MUESTRA SE COLOCAN EN POSICIÓN INCLINADA SOBRE UN TRIPIÉ, CON UN TRIÁNGULO DE PORCELANA Y SE CALIENTA DIRECTAMENTE CON EL MECHERO HASTA UNA TOTAL CARBONIZACIÓN DE LA MUESTRA. UNA VEZ DESTRUÍDA LA MATERIA ORGÁNICA, SE COLOCAN LOS CRISOLES EN LA MUFLA A UNA TEMPERATURA DE 550° C, DURANTE EL TIEMPO NECESARIO PARA OBTENER CENIZAS BLANCAS O GRISES HOMOGÉNEAS. SE DEBE TENER CUIDADO DE QUE LA TEMPERATURA - NO EXCEDA DE 550° C PUES DE LO CONTRARIO, SE PRODUCE VOLATILIZACIÓN DE LOS CLOROS. OBTENIDAS LAS MUESTRAS, SE TRANSFIEREN LOS CRISOLES AL DESECADOR, SE DEJAN ENFRIAR Y SE PESAN.

CÁLCULOS.

$$\% \text{ CENIZAS } = \frac{A \times 100\%}{B}$$

DONDE A PESO DE LAS CENIZAS  
B PESO DE LA MUESTRA ORIGINAL

c) DETERMINACION DE GRASA CRUDA.

FUNDAMENTO.

LA VOLATILIZACIÓN Y CONDENSACIÓN DEL ÉTER ETÍLICO ANHÍDRO SOBRE LA MUESTRA, PRODUCE UNA RECIRCULACIÓN CONTÍNUA POR MEDIO DE LA CUAL SE EXTRAHE TODO EL MATERIAL SOLUBLE EN ÉL.

REACTIVOS Y MATERIAL.

APARATO DE EXTRACCIÓN DE GOLDFISH LABCONCO  
ESTUFA THELCO DE VACÍO  
BALANZA ANALÍTICA  
VASOS DE PRECIPITADO DE BORDE ESMERILADO  
CARTUCHO DE CELULOSA  
ETER ANHÍDRO

PROCEDIMIENTO.

PESAR DE 2 A 3 GRs. DE MUESTRA EN LOS CARTUCHOS DE CELULOSA LOS CUALES SE COLOCAN EN EL APARATO DE EXTRACCIÓN POR ME

DIO DE FUNDAS DE VIDRIO ABIERTAS POR AMBOS EXTREMOS. POR OTRO LADO SE ADICIONAN 40 ML. DE ÉTER ANHÍDRO EN LOS VASOS DE BORDE ESMERILADO PUESTO PREVIAMENTE A PESO CONSTANTE Y SE CONECTA EL APARATO POR MEDIO DE ANILLOS DE ROSCA ESPECIAL PARA EVITAR QUE ESCAPE EL ÉTER. EL APARATO CONSTA DE UN SISTEMA DE CALENTAMIENTO Y OTRO DE CONDENSACIÓN. SE HA CE FUNCIONAR APROXIMADAMENTE DE 4 A 5 HORAS PARA LLEVAR A CABO UNA EXTRACCIÓN CONTÍNUA. CUANDO LA CONDENSACIÓN SE HA COMPLETADO, SE DESTILA EL ÉTER Y LOS VASOS CON GRASA SE LLEVAN A LA ESTUFA A 60° C HASTA OBTENER EL PESO CONSTANTE.

#### CÁLCULOS

$$\% \text{ GRASA CRUDA} = \frac{A \times 100}{B}$$

A PESO DE LA GRADA

B PESO DE LA MUESTRA

#### DETERMINACION DE FIBRA CRUDA

##### FUNDAMENTO

SE USA UNA MUESTRA DESENGRASADA, LA QUE SE SOMETE A UN TRATAMIENTO ÁCIDO Y POSTERIORMENTE A UN TRATAMIENTO BÁSICO. - EL RESIDUO DE ESTA HIDRÓLISIS ES LA PARTE NO DIGERIBLE O FIBRA CRUDA.

REACTIVOS Y MATERIAL

ACIDO SULFÚRICO 1.25%      NAOH 1.25%  
ESTUFA GHELCO DE VACÍO  
MUFLA  
PARRILLA CON AGITADOR  
MATRACES ERLLENMEYER DE 1000 ML.  
ASBESTO CALCINADO

PROCEDIMIENTO

SE PESAN DE 2 A 3 GRS. DE MUESTRA DESENGRASADA Y SE COLOCAN EN UN MATRAZ ERLLENMEYER DE 1000 ML. SE ADICIONA 0.5 GRS DE ASBESTO CALCINADO Y 200 ML. DE ÁCIDO SULFÚRICO 1.25% HIRVIENDO Y UN POCO DE ANTIESPUMANTE, SE MANTIENE LA EBULLICIÓN DURANTE TREINTA MINUTOS, AL CABO DE LOS CUALES SE FILTRA EL VACÍO SOBRE UN PAÑO DE LINO EN UN BUCHNER Y SE LAVA CON AGUA DESTILADA HIRVIENDO HASTA QUE NO DE REACCIÓN ÁCIDA. UNA VEZ LAVADO EL RESIDUO, SE TRANSFIERE AL MATRAZ ORIGINAL, SE ADICIONAN 200 ML. DE HIDRÓXIDO DE SODIO AL 1.25% HIRVIENDO Y UN POCO DE ANTIESPUMANTE, SE DEJA HERVIR TREINTA MINUTOS, SE VUELVE A FILTRAR, SE LAVA CON AGUA DESTILADA HIRVIENDO HASTA QUE NO DE REACCIÓN BÁSICA Y FINALMENTE SE HACE UN ÚLTIMO LAVADO CON 25 ML DE ALCOHOL ETÍLICO AL 95%.

EL RESIDUO LIMPIO SE COLOCA EN UN CRISOL DE PORCELANA PUESTO PREVIAMENTE A PESO CONSTANTE Y SE LLEVA A LA ESTUFA PARA

SECARLO A 60° A 65° C DURANTE DOS HORAS, DESPUÉS DE LAS CUALES SE PASA AL DESECADOR, SE DEJA ENFRIAR Y SE PESA. DESPUÉS SE COLOCA EL CRISOL EN LA MUFLA PARA CALCINAR EL RESIDUO A 900° C, SE PASA AL DESECADOR,

### CÁLCULOS

$$\% \text{ FIBRA CRUDA } \frac{( A - B ) 100}{C}$$

DONDE    A    PESO DEL RESIDUO SECO  
          B    PESO DEL RESIDUO CALCINADO  
          C    PESO DE LA MUESTRA ORIGINAL.

### DETERMINACION DE PROTEINAS CRUDA (METODO DE KJELDAHL)

#### FUNDAMENTO

EL MÉTODO CONSTA DE DOS FASES; 1) DIGESTIÓN, EN LA CUAL SE LLEVA A CABO LA DESTRUCCIÓN DE LA MATERIA ORGÁNICA Y LA FIJACIÓN DEL NITRÓGENO COMO SULFATO ÁCIDO DE AMONIO. 2) DESTILACIÓN, EN DONDE SE LIBERA EL NITRÓGENO, QUE SE RECIBE EN UNA SOLUCIÓN DE ÁCIDO BÓRICO, FORMANDO BORATO DE AMONIO QUE SE TITULA CON UNA SOLUCIÓN DE ÁCIDO CLORHIDRICO 0.1N.

#### REACTIVOS Y MATERIAL

APARATO MACRO KJELDAHL

DIGESTOR Y DESTILADOR LABCONCO

BALANZA ANALÍTICA

MATRACES ERLLENMEYER DE 500 ML.

BURETA

MATRACES KJELDAHL DE 500 ML.

MEZCLA DIGESTIVA

SOLUCIÓN DE ÁCIDO BÓRICO 0.5% (CON INDICADORES)

SOLUCIÓN DE ÁCIDO CLORHÍDRICO ) ,1 N.

SOLUCIÓN DE HIDROXIDO DE SODIO 60%

MEZCLA REACTIVA DE SELENIO (MERCK)

#### REPARACIÓN DE REACTIVOS

MEZCLA DIGESTIVA A 300 ML DE ÁCIDO SULFÚRICO SE LE AGREGA 100 MIL DE ÁCIDO Ó-FOSFÓRICO Y 3 GRS DE SULFATO CÚPRICO - MEZCLAR COMPLETAMENTE HASTA LA TOTAL DISOLUCIÓN.

SOLUCIÓN DE ÁCIDO BÓRICO 0.5% CON INDICADORES A 10 GRS DE ÁCIDO BÓRICO SE DISUELVE EN 1000 ML DE AGUA DESTILADA, SE AGREGAN AGUA HASTA CERCA DEL AFORO, SE AJUSTA EL COLOR A UN CAFÉ ROJIZO CON UNAS GOTAS DE HIDROXIDO DE SODIO 0,5N Y SE AFORA CON AGUA A 2000 ML.

INDICADOR A) SOLUCIÓN DE FENOLFTALEÍNA AL 0,1% EN ALCOHOL ETÍLICO.

INDICADOR B) SOLUCIÓN DE 33 MG DE VERDE BROMO CRESOL Y 66 MG DE ROJO DE METILO SE DISUELVEN Y SE AFORAN A 100 ML CON ETANOL AL 95%.

### PROCEDIMIENTO

PESAR APROXIMADAMENTE 0,5 GRS. DE MUESTRA Y SE COLOCAN EN UN MATRAZ KJEDAHN DE 500 ML, SE ADICIONAN 5 GRS. DE MEZCLA REACTIVA DE SELENIO (CATALIZADOR), PIEDRAS DE EBULLICIÓN Y 20 ML DE MEZCLA DIGESTIVA. SE COLOCAN LOS MATRACES EN EL DIGESTOR Y SE CALIENTA DURANTE 2,5 HORAS.

TRANSCURRIDO EL TIEMPO DE LA DIGESTIÓN, SE DEJAN ENFRIAR LOS MATRACES, SE AGREGAN 200 ML. DE AGUA DESTILADA FRÍA Y SE AGITAN Y SE DEJAN REPOSAR DESPUÉS CON MUCHO CUIDADO Y RESBALANDO POR LAS PAREDES SE ADICIONAN 50 ML. DE HIDRÓXIDO DE SODIO AL 60% BIEN FRÍO PARA QUE SE ESTRATIFIQUE INMEDIATAMENTE SE COLOCAN LOS MATRACES EN EL DESTILADOR Y SE CONECTAN LAS TRAMPAS DE VACÍO. EL DESTILADOR SE RECIBE EN UN MATRAZ ERLLENMEYER DE 500 ML. CONECTADO A LA SALIDA DEL DESTILADOR. POSTERIORMENTE SE TITULA EL CONTENIDO DEL MATRAZ CON ÁCIDO CLORHÍDRICO 0,1 N. AL MISMO TIEMPO DE LA DETERMINACIÓN SE HACE TODO EL ANÁLISIS DE UN BLANCO DE REACTIVO DE MUESTRA.

CÁLCULOS

$$\% \text{ NITRÓGENO} = \frac{(A - B) N \times \text{MEG. N} \times 100}{\text{PESO DE LA MUESTRA}}$$

DONDE A ML. ÁCIDO CLORHIDRICO 0.1N USADO  
PARA TITULAR LA MUESTRA,

B ML. ÁCIDO CLORHIDRICO 0.1N USADO  
PARA TITULAR EL BLANCO,

% PROTEÍNA CRUDA % N<sub>2</sub> X 6.25

DETERMINACION DE GOSIPOL LIBRE EN LA HARINA DE SEMILLA DE  
ALGODON (32).

FUNDAMENTO

ES LA DETERMINACIÓN DE GOSIPOL LIBRE DENTRO DE LA HARINA DE  
SEMILLA DE ALGODÓN, A TRAVÉS DEL MÉTODO SIGUIENTE.

REACTIVOS Y MATERIAL

AGITADOR MECÁNICO

ESPECTROFOTÓMETRO COLEMAN MODELO 6/35

PERLAS DE VIDRIO

MATRAZ ERLLENMEYER DE 250 ML. CON TAPÓN DE VIDRIO

ANILINA

SOLUCIÓN ESTANDAR DE GOSIPOL.

PREPARACIÓN DE REACTIVOS.

SOLUCIÓN ACUOSA DE ACETONA; MEZCLAR 700 ML. DE ACETONA A.C. S. G.R. Y 300 ML. DE AGUA DESTILADA.

SOLUCIÓN ACUOSA DE ALCOHOL ISOPROPÍLICO; MEZCLAR 800 ML DE ALCOHOL ISOPROPÍLICO A.C.S.G.R. CON 200 ML. DE AGUA DESTILADA.

ANILINA; DESTILAR ANILINA A.C.S.G.R. SOBRE UNA PEQUEÑA CANTIDAD DE GRANALLA DE ZINC, USANDO UN REFRIGERENTE DE AIRE, DESECHAR LOS 10 PRIMEROS ML. DE LA DESTILACIÓN Y GUARDAR - UN FRASCO ÁMBAR HERMÉTICAMENTE CERRADO Y EN EL REFRIGERADOR. ESTE REACTIVO ES ESTABLE DURANTE MESES CUANDO SE ALMACENA EN CONDICIONES ADECUADAS. DEBE REDESTILARSE CUANDO EL BLANCO - "2" DE UNA LECTURA MENOR DE 95% DE TRANSMITANCIA O EXCEDA AL 0.22 DE ABSORBENCIA.

SOLUCIÓN ESTÁNDAR DE GOSIPOL 0.02 NG/ML; PESAR EXACTAMENTE 25 MG. DE GOSIPOL PURO, DISOLVER EN ACETONA PURA Y TRANSFERIR - CUANTITATIVAMENTE A UN MATRAZ VOLUMÉTRICO DE 250 ML. USANDO CERCA DE 100 ML. DE AGUA DESTILADA, MEZCLAR DILUIR AL VOLUMEN CON ACETONA Y MEZCLAR NUEVAMENTE. PIPETEAR 50 ML. DE ESTA SOLUCIÓN EN UN MATRAZ VOLUMÉTRICO DE 250 ML. AGREGAR CERCA DE 100 ML. DE ACETONA, 60 ML. DE AGUA DESTILADA,

MEZCLAR Y DILUIR AL VOLUMEN CON ACETONA. ESTA SOLUCIÓN ES TÁNDAR ES ESTABLE DURANTE 24 HORAS CUANDO SE PROTEGE DE LA LUZ.

### PROCEDIMIENTO

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA, LA MUESTRA EXACTAMENTE PESADA (NO MÁS DE UN GRAMO), SE TRANSFIERE A UN MATRAZ ERLLENMEYER DE 250 ML. QUE CONTIENE UNAS PERLAS DE EBULLICIÓN. CON UNA PIPETA VOLUMÉTRICA SE ADICIONAN 50 ML. DE LA SOLUCIÓN ACUOSA DE ACETONA, SE TAPA EL MATRAZ Y SE AGITA DURANTE UNA HORA, EMPLEANDO PARA ESTE FIN UN AGITADOR MAGNÉTICO. DESPUÉS DE ESTE TIEMPO LA SOLUCIÓN SE FILTRA A TRAVÉS DE PAPEL FILTRO SECO Y EL FILTRADO SE RECOGE EN UN MATRAZ DE TAPÓN DE VIDRIO, LOS PRIMEROS 10 ML. DE FILTRADO SE DESECHAN, CON EL FIN DE REDUCIR LA EVAPORACIÓN, DURANTE LA FILTRACIÓN SE COLOCA UN VIDRIO DE RELOJ SOBRE EL EMBUDO.

POR DUPLICADO SE PIPETEAN LAS MUESTRAS ES DECIR LAS ALÍCUOTAS DEL FILTRADO DE 10 ML/GRS. DE MUESTRA (NOTA 1) Y SE TRANSFIEREN A MATRACES VOLUMÉTRICOS DE 25 ML. UNA ALÍCUOTA SE DILUYE AL VOLUMEN EN SOLUCIÓN ACUOSA DE ALCOHOL ISOPROPÍLICO (SOLUCIÓN A) Y LA OTRA ALÍCUOTA (SOLUCIÓN B) SE LE AGREGAN 2 ML. DE ANILINA REDESTILADA.

(USE UNA PIPETA QUE DESCARGUE RÁPIDAMENTE Y SE CALIENTA EN UN BAÑO MARÍA A TEMPERATURA DE EBULLICIÓN DURANTE TREINTA MINUTOS, JUNTO CON UN BLANCO DE REACTIVOS QUE CONTIENE 2 ML. DE ANILINA UN VOLUMEN DE SOLUCIÓN ACUOSA DE ACETONA - IGUAL AL VOLUMEN DE LA ALÍCUOTA DE LA MUESTRA. SE RETIRA LA SOLUCIÓN B Y EL BLANCO DEL BAÑO SE LE AGREGA SUFICIENTE SOLUCIÓN ACUOSA DE ALCOHOL ISOPROPÍLICO PARA HOMOGENIZAR - LA SOLUCIÓN, SE ENFRÍA A TEMPERATURA AMBIENTE EN UN BAÑO DE AGUA Y SE DILUYE AL AFORO CON SOLUCIÓN ACUOSA DE ALCOHOL ISOPROPÍLICO.

SE DETERMINA LA ABSORBANCIA O EL PORCENTAJE DE TRANSMITANCIA A 450 NM, PARA LA SOLUCIÓN A SE AJUSTA EL INSTRUMENTO AL 100% DE TRANSMITANCIA CON SOLUCIÓN ACUOSA DE ALCOHOL - ISOPROPÍLICO, UNA VEZ AJUSTADO SE LEE EL PORCENTAJE DE TRANSMITANCIA DEL BLANCO DE REACTIVOS QUE DEBE SER 95%. EN CASO CONTRARIO, SE REPITE EL ANÁLISIS EMPLEANDO ANILINA RECIÉN DESTILADA.

PREPARACIÓN DE LA CURVA ESTÁNDAR: SE PIPETEAN POR DUPLICADO ALÍCUOTAS DE 1,2,3,4,5,7,8, Y 10 ML. DE LA SOLUCIÓN ESTÁNDAR DE GOSIPOL. ( A UN 0.02 MG. DE GOSIPOL/ML.) Y SE TRANSFIERE A MATRACES DE 25 ML. ( A UN GRUPO DE ALÍCUOTAS SE LES DENOMINA A Y AL OTRO B ).

LAS ALÍCUOTAS DESIGNADAS COMO A SE DILUYEN AL VOLUMEN CON SOLUCIÓN ACUOSA DE ALCOHOL ISOPROPÍLICO Y SE DETERMINA LA ABSORBANCIA O TRANSMITANCIA DE CADA ALÍCUOTA EXACTAMENTE COMO EN LOS PROBLEMAS O SEA, AJUSTANDO EL INSTRUMENTO A 100 % DE TRANSMITANCIA CON SOLUCIÓN ACUOSA DE ALCOHOL ISO PROPÍLICO.

AL GRUPO B DE ALÍCUOTAS SE ADICIONAN 2 ML. DE ANILINA RE-DESTILADA Y SE LEE EL PORCENTAJE DE TRANSMITANCIA COMO SE LEYÓ LA SOLUCIÓN B EN LOS PROBLEMAS, EN ESTE CASO NO ES NECESARIO PREPARAR REACTIVOS BLANCOS PARA CADA ALÍCUOTA DE GOSIPOL ESTÁNDAR PARA ESTE FIN SE USA UNA MUESTRA DE 2 ML. DE ANILINA Y 10 ML. DE SOLUCIÓN ACUOSA DE ACETONA, LA CUAL SE CALIENTA Y SE TRATA DE LA MISMA FORMA QUE LAS ALÍCUOTAS DE GOSIPOL ESTÁNDAR ( ESTA SOLUCIÓN SE UTILIZA COMO BLANCO).

### CÁLCULOS

SI LAS LECTURAS SE TOMAN EN PORCENTAJES DE TRANSMITANCIA, SE CONVIERTE EN ABSORBANCIA, MEDIANTE LA SIGUIENTE FÓRMULA.

$$\text{ABSORBANCIA} = 2 - \text{LOG. TRANSMITANCIA}$$

$$\text{ABSORBANCIA CORREGIDA} = \text{ABS. B} - \text{ABS. A}$$

EN UN PAPEL MILIMÉTRICO SE GRAFICA LA ABSORBANCIA CORREGIDA DE CADA ALÍCUOTA DE GOSIPOL CONTRA LA CONCENTRACIÓN DE GOSIPOL EN EL VOLUMEN DE 25 ML. CON LOS VALORES DE ABSORBANCIA CORREGIDA DE LA ALÍCUOTA DE LA MUESTRA PROBLEMA, SE DETERMINA LOS MG. DE GOSIPOL LIBRE PRESENTE EN DICHAS ALÍCUOTAS POR REFERENCIA DE LA CURVA ESTÁNDAR,

$$\text{PORCENTAJE DE GOSIPOL LIBRE} = \frac{5 \text{ G}}{W \text{ V}}$$

DONDE G MG. DE GOSIPOL LIBRE EN LA ALÍCUOTA DE LA MUESTRA  
W PESO DE LA MUESTRA EN GRAMOS  
V VOLUMEN DE LAS ALÍCUOTAS TOMADAS

#### NOTA (1)

LA SELECCIÓN DE LA ALÍCUOTA DE LA MUESTRA DEPENDE DEL CONTENIDO DE GOSIPOL LIBRE EN LA HARINA Y DE LOS TEJIDOS EMPLEADOS. PARA HARINOLINAS CON UN CONTENIDO DE GOSIPOL LIBRE DE 0.01 A 0.05% EL VOLUMEN DE LA ALÍCUOTA SERÁ DE 5 ML. PARA LAS HARINOLINAS DE ALTO CONTENIDO DE GOSIPOL, SE PUEDEN USAR 2 ML.

#### PRUEBAS BIOLÓGICAS

EL TRABAJO REALIZADO SE EFECTUÓ CON CUARENTA Y DOS RATAS

MACHO DE CEPA SPRAGUE DAWLEY DE DOCE A CATORCE SEMANAS DE EDAD CON UN PESO APROXIMADO DE 300 GRs, DIVIDIDAS EN TRES GRUPOS DE CATORCE RATAS CADA UNO. LOS ANIMALES FUERON ALIMENTADOS CON DIETAS ELABORADAS A BASE DE HARINA DE SEMILLA DE ALGODÓN, LA CUAL PROPORCIONA A LA DIETA EL 5% DE PROTEÍNA Y OTRO 5% LO PROPORCIONA LA CASEÍNA, QUEDANDO LA DIETA AL 10%, TOMANDO COMO BASE LA SIGUIENTE DIETA PARA ELABORAR LAS DIETAS QUE SE UTILIZARON DURANTE EL TRATAMIENTO.

COMPONENTE	DIETA (BASE) %
DEXTRINA	25.0
SACAROSA	20.1
GLUCOSA	19.0
PROTEÍNA	10.0
MANTECA	8.0
ACEITE	6.0
SALES MINERALES	4.0
CELULOSA	5.9
VITAMINAS	2.0

QUEDANDO DE LA SIGUIENTE MANERA:

COMPONENTE	DIETA No. 1 (CONTROL) %	DIETA No. 2 %	DIETA No. 3 %
CASEÍNA	11.23	5.62	5.62
H. SEMILLA DE ALGODÓN	-	25.5	25.5

COMPONENTE	DIETA No. 1	DIETA No. 2	DIETA No. 3
SACAROSA	20.1	20.1	20.1
GLUCOSA	19.0	16.97	16.97
DEXTRINA	25.0	15.63	15.63
MANTECA	8.0	5.18	5.18
ACEITE	6.0	6.0	6.0
MINERALES	4.0	3.0	3.0
VITAMINAS	2.0	2.0	2.0
CELULOSA	4.67	-	-
VITAMINA E	-	-	1.0
CALORÍAS	422.4 CAL/100GR.	424.3 CAL/100 GR.	424.3CAL/100 GR.

EL PERÍODO DE ALIMENTACIÓN FUÉ DE DIECISEIS SEMANAS, DIVIDIDAS EN DOS PERÍODOS DE OCHO SEMANAS CADA UNO CON UNA SEMANA DE RECUPERACIÓN ENTRE CADA PERÍODO, Y DESPUÉS DE CONCLUIR EL SEGUNDO PERÍODO DE TRATAMIENTO FUÉ UN PERÍODO DE RECUPERACIÓN DE CUATRO SEMANAS, DONDE SE LES PROPORCIONÓ A LAS RATAS AGUA Y ALIMENTO A LIBERTAD, SE LLEVÓ CONTROL DE PESO CORPORAL Y CONSUMO DE ALIMENTO DE LAS DIETAS DESIGNADAS PARA CADA GRUPO DE RATAS, QUE FUERON LAS SIGUIENTES; DURANTE LAS PRIMERAS OCHO SEMANAS SE SUMINISTRARON LAS DIETAS DE LA SIGUIENTE MANERA, DIETA No. 1 CONTROL DIETA No. 2 HARINA DE SEMILLA DE ALGODÓN Y LA DIETA No. 3 HARINA DE SEMILLA DE ALGODÓN MÁS EXCESO DE VITAMINA E., AL TERMINAR ESTE PERÍODO LAS RATAS ESTUVIERON UNA

SEMANA DE RECUPERACIÓN EN DONDE SU ALIMENTACIÓN, FUÉ A BASE DE PURINA CHOW Y AGUA A LIBERTAD, DESPUÉS DE ESTA SEMANA SE VOLVIÓ A PESAR A LOS ANIMALES PARA SOMETERLOS AL SEGUNDO PERÍODO DE TRATAMIENTO CON EL INTERCAMBIO DE LAS DIETAS, LAS RATAS DE LA DIETA NO. 1 NO SE LES AFECTÓ Y SE LES SIGUIÓ DANDO SU DIETA CONTROL, MIENTRAS QUE LA DIETA NO.2 SE SUMINISTRÓ LA DIETA CON HARINA DE SEMILLA DE ALGODÓN MÁS EXCESO DE VITAMINA E, Y LA DIETA NO. 3 FUE LA DE HARINA DE SEMILLA DE ALGODÓN. AL TERMINAR EL SEGUNDO PERÍODO DE TRATAMIENTO LAS RATAS FUERON PESADAS, Y COLOCADAS NUEVAMENTE PARA SU PERÍODO DE RECUPERACIÓN, CON UNA ALIMENTACIÓN A BASE DE PURINA CHOW Y AGUA. SE RECOLECTARON LAS HECES CADA DOS SEMANAS DURANTE EL TRATAMIENTO DE LAS DIECISEIS SEMANAS PARA DETERMINAR LA CANTIDAD DE GOSIPOL LIBRE EXCRETADO. AL FINALIZAR CADA PERÍODO DE OCHO SEMANAS SE SACRIFICARON CUATRO RATAS DE CADA DIETA, DONDE SE OBTUVIERON LOS ÓRGANOS Y LOS FLUIDOS PARA LA DETERMINACIÓN DE GOSIPOL LIBRE EN CADA UNO DE LOS SIGUIENTES ÓRGANOS: HÍGADO, BAZO, CORAZÓN, TESTÍCULO, MÚSCULO, GRASA, Y SUERO. LAS RATAS FUERON SACRIFICADAS POR DECAPITACIÓN, DONDE SE OBTENÍA LA SANGRE, Y DESPUÉS SE FUE EXTIRPANDO CADA ÓRGANO, SE PESARON INMEDIATAMENTE DESPUÉS DE REMOVIDO, SE HOMOGENIZARON CON UN TALADRO NORMAL MECÁNICO (SKIL 550 II) A UNA DILUCIÓN DE 100 MG DE TEJIDO/ML DE AGUA, POSTERIORMENTE SE REFRIGERARON, Y DESPUÉS SE DETERMINÓ GOSIPOL LIBRE DE CADA ÓRGANO TRABAJAN

DO MUESTRAS POR DUPLICADO PARA OBTENER EL MENOR ERROR. LAS RATAS QUE QUEDARON ESTUVIERON EN RECUPERACIÓN Y DESPUÉS DE LAS CUATRO SEMANAS DE ESTAR AHÍ A LAS RATAS NUEVAMENTE SE LES TOMÓ SU PESO CORPORAL.

V- RESULTADOS

- I. EN EL CUADRO NO. I SE ENCUENTRAN LOS RESULTADOS DEL ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL EFECTUADO A LA HARINA DE SEMILLA DE ALGODÓN DONDE SE PUEDE APRECIAR QUE TANTO EL CONTENIDO DE PROTEÍNA COMO EL DE GRASA SON ELEVADOS, POR LO QUE ES UNA MATERIA PRIMA IMPORTANTE - TANTO PARA LA OBTENCIÓN DE ACEITE COMESTIBLE COMO EL DE LA TORTA RESIDUAL, LA CUAL SE EMPLEA EN LA ELABORACIÓN DE DIETAS BALANCEADAS.
  
- II. LA CONCENTRACIÓN DE GOSIPOL LIBRE DETERMINADO EN CADA UNA DE LAS DIETAS SE MUESTRAN EN EL CUADRO NO. II LAS CUALES FUERON ADMINISTRADAS A LAS RATAS DURANTE LOS DOS PERÍODOS DE TRATAMIENTO. LA DIFERENCIA EN LA CONCENTRACIÓN DE GOSIPOL LIBRE ENTRE LAS DIETAS DEL PRIMER Y SEGUNDO PERÍODO DE TRATAMIENTO SE DEBE A QUE ÉSTAS FUERON ELABORADAS CON DIFERENTES LOTES DE SEMILLA DE ALGODÓN, SIENDO LA MÁS BAJA DE 122 MG/100 GRs. Y LA MÁS ALTA DE 180 MG/100 GRs. DE DIETA,

CON LO CUAL TENEMOS UNA VARIACIÓN DEL 30% ENTRE LA DIETA MÁS BAJA Y LA MÁS ALTA.

III. EN EL CUADRO No. III SE MUESTRA EL PESO CORPORAL DE LOS ANIMALES ALIMENTADOS CON LA DIETA No. 1 EN DONDE SE OBSERVÓ UN INCREMENTO DEL 5,59% DURANTE LAS CUATRO SEMANAS; MIENTRAS QUE LOS ANIMALES QUE INGERIRON LAS DIETAS No. 2 Y No. 3 TUVIERON UN DECREMENTO EN EL PESO CORPORAL EL CUAL ALCANZÓ EL 24,59% EN EL GRUPO 2 Y EL 27,9% EN EL GRUPO 3. ESTO PUEDE DEBERSE A DOS FACTORES: LA PRESENCIA DE UN TÓXICO EN LAS DIETAS No. 2 Y No. 3, Y A LA DISMINUCIÓN EN EL CONSUMO DE ALIMENTO, QUE EN SÍ ESTE ES UNO DE LOS SÍNTOMAS QUE PRESENTA LA INGESTIÓN DE GOSIPOL. EN ESTA MISMA TABLA SE MUESTRA EL CONSUMO TOTAL DE GOSIPOL LIBRE Y EL CONSUMO DE GOSIPOL LIBRE POR DÍA, LOS CUALES FUERON DETERMINADOS DE ACUERDO A LA CANTIDAD DE ALIMENTO INGERIDO EN LOS DOS PERÍODOS DE TRATAMIENTO. COMO SE MUESTRA EN LA TABLA EL CONSUMO DIARIO DE GOSIPOL LIBRE FUE DE 14,98 MG Y DE 14,41 MG EN LAS DIETAS No. 2 Y No. 3 RESPECTIVAMENTE. AL TERMINAR EL PRIMER PERÍODO DE OCHO SEMANAS DE TRATAMIENTO CON LAS DIETAS ANTES MENCIONADAS, SE LES DIÓ UNA SEMANA DE RECUPERACIÓN A LAS RATAS, SUMINISTRÁNDOLES UNA DIE

TA NORMAL DE PURINA CHOW Y AGUA A LIBERTAD AL TÉRMI  
NO DE ESTA SEMANA SE VOLVIERON A PESAR A LOS ANIMA  
LES PARA EMPEZAR EL SEGUNDO PERÍODO DE TRATAMIENTO,  
DÁNDOLES LAS MISMAS DIETAS PERO EN FORMA INVERSA CON  
RESPECTO A LAS DIETAS No. 2 Y LA DIETA No. 3. AL  
INICIO DEL SEGUNDO PERÍODO DE TRATAMIENTO EL PESO  
DE LOS ANIMALES FUE SIMILAR EN LOS TRES GRUPOS. ES  
TO SE DEBIÓ A LA SEMANA DE RECUPERACIÓN A LA CUAL  
FUERON SOMETIDOS LOS ANIMALES ANTES DE ENTRAR A SU  
SEGUNDO PERÍODO DE TRATAMIENTO LO CUAL PERMITIÓ UN  
INCREMENTO DE PESO CORPORAL EN TODOS LOS GRUPOS. AL  
TÉRMINO DEL TRATAMIENTO SE OBSERVÓ QUE EN LA DIETA  
No. 1 HUBO UN INCREMENTO EN PESO CORPORAL DE LAS RA  
TAS EN UN 9.58%, CON RESPECTO AL INICIO DEL TRATA  
MIENTO, MIENTRAS QUE EN LAS DIETAS No. 2 Y No. 3 TU  
VIERON UN DECREMENTO EN EL PESO CORPORAL DEL 26.92%.  
POSIBLEMENTE POR LAS MISMAS CAUSAS MENCIONADAS PARA  
EL PRIMER PERÍODO DE TRATAMIENTO. CON RESPECTO AL  
CONSUMO DE GOSIPOL HUBO UN AUMENTO, LO CUAL SE DEBIÓ  
A QUE LAS DIETAS CONTENÍAN MAYOR CANTIDAD DE GOSIPOL,  
QUE LAS DIETAS DEL PRIMER PERÍODO DE TRATAMIENTO.

IV. EN LA TABLA No. IV SE MUESTRAN LOS RESULTADOS OBTE  
NIDOS DE GOSIPOL INGERIDO Y GOSIPOL EXCRETADO DETER  
MINADO DE ACUERDO AL CONSUMO DE ALIMENTO Y HECE EX

CRETADAS, CON LO CUAL SE CALCULÓ LA CANTIDAD DE GOSIPOL ABSORBIDO, QUE COMO SE PUEDE OBSERVAR SE MANTUVO CONSTANTE LA ABSORCIÓN DURANTE TODO EL PERÍODO DE TRATAMIENTO Y ESTÁ FUÉ PRÁCTICAMENTE TOTAL YA QUE FUÉ DE UN 93 - 95 %, EL MISMO FENÓMENO SE OBSERVÓ EN AMBAS DIETAS, LO CUAL INDICA QUE LA SUPLEMENTACIÓN DE VITAMINA E, NO INTERFIRIO EN SU ABSORCIÓN.

- V. EN LA TABLA NO. V SE MUESTRAN LOS RESULTADOS OBTENIDOS DURANTE EL SEGUNDO PERÍODO DE TRATAMIENTO CON RESPECTO A LA ABSORCIÓN DE GOSIPOL; COMO PUEDE OBSERVARSE ESTA FUE SIMILAR A LA DEL PRIMER TRATAMIENTO, Y NUEVAMENTE LA SUPLEMENTACIÓN DE VITAMINA E, NO AFECTÓ LA ABSORCIÓN DE GOSIPOL.
- VI. EN EL CUADRO NO. VI SE TIENEN CONCENTRADOS LOS VALORES DE GOSIPOL LIBRE EN ÓRGANOS DE RATA MACHO, DE PRIMER Y SEGUNDO PERÍODO DE TRATAMIENTO, ASÍ COMO EN EL DE RECUPERACIÓN. LAS DIETAS FUERON SUMINISTRADAS COMO ANTERIORMENTE SE HA MENCIONADO, DONDE LA DIETA NO. 1 EN LOS DOS PERÍODOS DE TRATAMIENTO FUÉ LIBRE DE GOSIPOL. EN LA DIETA NO. 2 SE OBSERVA UNA MAYOR ACUMULACIÓN DE GOSIPOL LIBRE EN SUERO Y GRASA, Y UNA MENOR ACUMULACIÓN EN MÚSCULO. EN LA DIETA NO. 3 LA ACUMULACIÓN DE GOSIPOL LIBRE PRESENTÓ UN PATRÓN SI-

MILAR A LA DIETA NO. 2. DURANTE EL SEGUNDO PERÍODO DE TRATAMIENTO NO SE OBSERVARON CAMBIOS EN EL CONTENIDO DE GOSIPOL LIBRE EN LOS TEJIDOS ANALIZADOS, OBSERVÁNDOSE LA MISMA DISTRIBUCIÓN QUE DURANTE EL PRIMER PERÍODO DE TRATAMIENTO EN AMBAS DIETAS.

LA ÚLTIMA COLUMNA DE LA TABLA VI MUESTRA LOS RESULTADOS OBTENIDOS DESPUÉS DE OCHO SEMANAS DE RECUPERACIÓN EN LA CUAL DEMUESTRA QUE AUN HAY RESTOS DE GOSIPOL ACUMULADO EN LOS TEJIDOS ANALIZADOS; SALVO EN GRASA EN DONDE NO SE DETECTÓ GOSIPOL.

No. 1

ANALISIS QUIMICO PROXIMAL DE LA HARINA DE SEMILLA DE ALGODON

( G , / 100 G , DE HARINA DE SEMILLA DE ALGODÓN )

	BASE HÚMEDA	BASE SECA
HUMEDAD	3.48	-
CENIZAS	3.88	4.01
PROTEÍNA	19.56	20.24
GRASA	18.9	19.12
FIBRA CRUDA	34.3	35.49
CARBOHIDRATOS	19.88	21.14

No. 11

CONCENTRACION DE GOSIPOL LIBRE EN CADA UNA DE LAS DIETAS ADMINISTRADAS A RATAS DURANTE LOS DOS PERIODOS DE TRATAMIENTO.

DIETAS

CONCENTRACION DE GOSIPOL LIBRE ( MG / 100 G . . )

PRIMER PERIODO

HARINA DE SEMILLA DE ALGODÓN MÁS CASEÍNA 126 MG / 100 G . .

HARINA DE SEMILLA DE ALGODÓN MÁS CASEÍNA MÁS VIT. E 122 MG / 100 G

SEGUNDO PERIODO

HARINA DE SEMILLA DE ALGODÓN MÁS CASEÍNA MÁS VIT. E 180 MG / 100 G .

HARINA DE SEMILLA DE ALGODÓN MÁS CASEÍNA 145 MG / 100 G

PESO DE LOS ANIMALES, CONSUMO DE ALIMENTO Y CONSUMO DE GOSIPOL DURANTE LOS DOS PERIODOS DE TRATAMIENTO Y EL PERIODO DE RECUPERACION

## PRIMER PERIODO

DIETA	PESO DE ANIMALES (g)		CONSUMO DE ALIMENTO (g)	CONSUMO TOTAL DE GOSIPOL (MG.)	CONSUMO DE GOSIPOL (MG.)	
	INICIAL	FINAL			POR	DÍA
1	385.8 ± 31.1	407.4 ± 31.5	855.5 ± 64.0	0		0
2	398.4 ± 22.8	300.4 ± 26.7	665.9 ± 80.8	839.0 ± 101.8		14.98 ± 1.81
3	412.3 ± 29.1	297.2 ± 31.8	661.6 ± 89.8	807.2 ± 109.6		14.41 ± 1.95

## UNA SEMANA DE RECUPERACIÓN

## SEGUNDO PERIODO

DIETA	PESO DE ANIMALES (g)		CONSUMO DE ALIMENTO (g)	CONSUMO TOTAL DE GOSIPOL (MG.)	CONSUMO DE GOSIPOL (MG.)	
	INICIAL	FINAL			POR	DÍA
1	396.5 ± 18.0	434.5 ± 24.3	973.6 ± 70.4	0		0
2	374.4 ± 35.7	266.3 ± 46.0	795.1 ± 141.4	1 431.2 ± 254.5		25.55 ± 4.54
3	9 ± 55.6	262.9 ± 37.7	730.4 ± 149.8	1 059.1 ± 217.2		18.91 ± 3.87

## PERIODO DE RECUPERACIÓN

DIETA	PESO DE ANIMALES (G.)	
	INICIAL	FINAL
	1	448.0 ± 15.7
2	268.0 ± 61.5	424.0 ± 15.6
3	257.0 ± 45.2	395.0 ± 10.6

No. IV. PROMEDIO DE GOSIPOL LIBRE INGERIDO, EXCRETADO Y ABSORBIDO  
EN EL PRIMER PERIODO DE TRATAMIENTO

DIETA No. 2

SEMANAS	ALIMENTO CONSUMIDO ( G )		PESO DE HECEES ( G )	GOSIPOL INGERIDO ( MG )		GOSIPOL EXCRETADO ( MG ) ( % )		GOSIPOL ABSORBIDO ( MG ) ( % )	
	2DA.	63.7 ± 24.1			10.31 ± 5.1	80.3 ± 30.5	4.6 ± 2.4	5.5 ± 1.4	-
4TA.	102.4 ± 17.1		13.9 ± 3.1	129.0 ± 22.1	7.1 ± 1.6	5.7 ± 2.0	122.9 ± 23	94.4 ± 2.0	
6TA.	92.0 ± 32.4		11.3 ± 1.1	115.9 ± 40.9	4.8 ± 0.6	4.7 ± 2.0	111.0 ± 41	95.8 ± 2.0	
8VA.	90.5 ± 12.2		13.1 ± 4.6	114.0 ± 15.4	5.9 ± 1.9	5.1 ± 1.5	103.0 ± 14	94.7 ± 1.6	

DIETA No. 3

SEMANAS	ALIMENTO CONSUMIDO ( G )		PESO DE HECEES ( G )	GOSIPOL INGERIDO ( MG )		GOSIPOL EXCRETADO ( MG ) ( % )		GOSIPOL ABSORBIDO ( MG ) ( % )	
	2DA.	65.2 ± 13.0			11.5 ± 3.0	79.5 ± 16.8	5.0 ± 1.8	6.4 ± 2.3	74.5 ± 16
4TA.	100.3 ± 28.0		15.2 ± 3.9	122.4 ± 34.0	7.9 ± 2.2	6.9 ± 2.8	114.5 ± 35	93.5 ± 2.8	
6TA.	85.4 ± 15.5		15.2 ± 1.9	104.1 ± 18.9	4.2 ± 1.3	4.3 ± 1.8	100.0 ± 19	95.7 ± 1.8	
8VA.	80.4 ± 20.7		14.7 ± 3.1	98.1 ± 25.2	6.2 ± 2.2	6.3 ± 1.5	91.7 ± 23	93.6 ± 1.5	

No. IV. PROMEDIO DE GOSIPOL LIBRE INGERIDO, EXCRETADO Y ABSORBIDO  
EN EL SEGUNDO PERIODO DE TRATAMIENTO

DIETA No. 2

SEMANAS	ALIMENTO CONSUMIDO ( G )		PESO DE HECES ( G )		GOSIPOL INGERIDO ( MG )		GOSIPOL EXCRETADO ( MG ) ( % )		GOSIPOL ABSORBIDO ( MG ) ( % )					
	2DA.	90,2	± 16,3	9,6	± 2,2	165,5	± 29,0	8,0	± 2,1	4,9	± 1,1	157,6	± 28	95,1
4TA.	84,4	± 20,9	9,5	± 1,6	151,9	± 37,6	7,8	± 2,0	5,4	± 1,6	144,1	± 37	94,6	± 1,7
6TA.	75,9	± 24,1	8,7	± 2,0	136,7	± 43,3	9,7	± 4,2	7,8	± 3,8	126,9	± 42	92,9	± 3,8
8VA.	99,7	14,3	10,6	4,1	179,5	25,7	9,6	3,7	5,8	2,5	169,8	28	94,4	± 2,8

DIETA No. 3

SEMANAS	ALIMENTO CONSUMIDO ( G )		PESO DE HECES ( G )		GOSIPOL INGERIDO ( MG )		GOSIPOL EXCRETADO ( MG ) ( % )		GOSIPOL ABSORBIDO ( MG ) ( % )					
	2DA.	85,0	± 16,9	10,4	± 2,8	123,2	± 28,4	8,9	± 3,1	7,3	2,9 ±	114,3	28	92,6
4TA.	92,4	± 14,1	9,3	± 2,5	106,1	± 23,4	8,2	± 3,1	6,7	1,6 ±	97,9	20	92,2	± 1,6
6TA.	71,1	± 30,5	9,7	± 3,2	103,1	± 44,3	9,2	± 4,7	9,4	4,5 ±	93,8	42	91,0	± 4,5
8VA.	90,5	± 37,1	7,7	± 2,2	131,2	± 53,8	6,5	± 2,1	16	4,0 ±	124,6	54	95,2	± 4,1

No. VI PROPIEDAD DE GOSIPOL LIBRE EN ORGANOS DE RATA MACHO EN EL PRIMERO Y SEGUNDO PERIODO DE TRATAMIENTO Y DURANTE EL PERIODO DE RECUPERACION ( 1% / 100 G M )

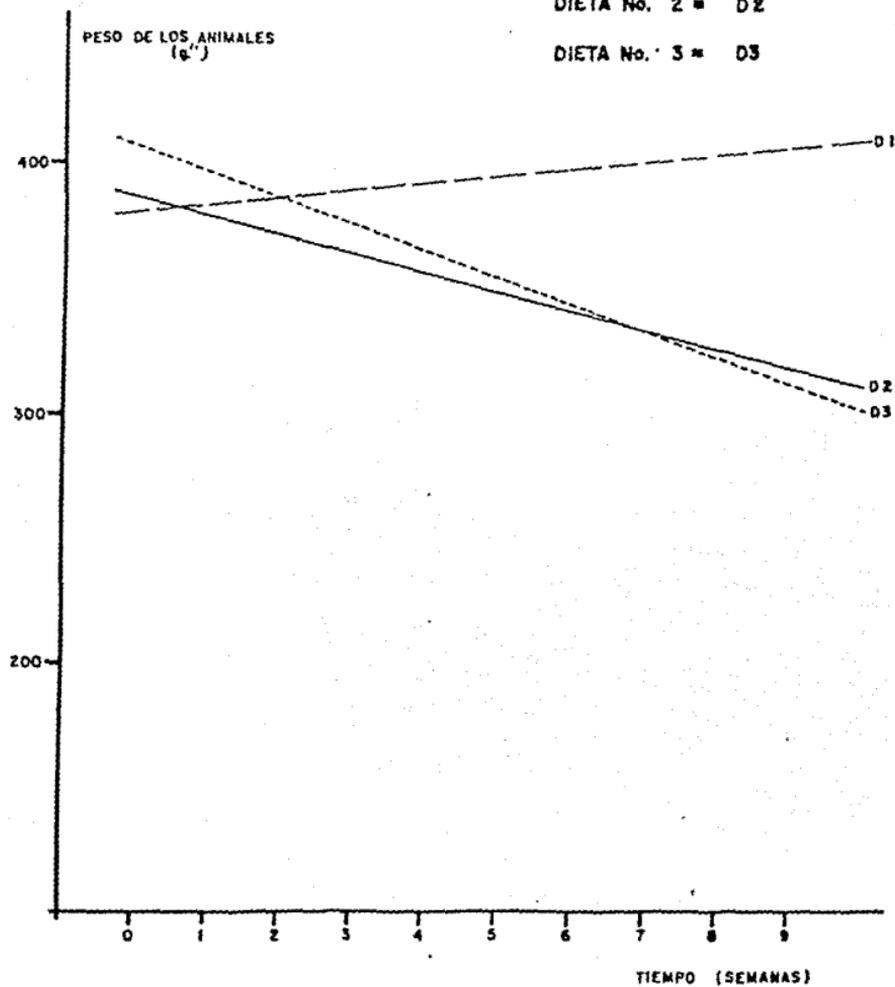
ORGANO	DIETA	1ER. PERIODO		2DO. PERIODO		RECUPERACION	
HIGADO	1	0		0		0	
	2	35.8 ±	21.5	34.6 ±	13.9	29.6 ±	2.1
	3	45.5 ±	11.9	25.4 ±	4.2	29.3 ±	0.3
BAZO	1	0		0		0	
	2	35.8 ±	9.8	43.6 ±	15.9	13.4 ±	7.6
	3	52.8 ±	5.0	67.7 ±	30.3	10.6 ±	15.1
CORAZÓN	1	0		0		0	
	2	28.6 ±	9.8	25.1 ±	3.1	15.3 ±	1.4
	3	38.6 ±	3.8	26.8 ±	8.7	22.7 ±	7.8
TESTÍCULO	1	0		0		0	
	2	30.5 ±	4.3	40.2 ±	1.1	11.8 ±	2.5
	3	20.9 ±	5.5	42.3 ±	23.5	15.2 ±	2.7
MÚSCULO	1	0		0		0	
	2	8.9 ±	7.8	15.7 ±	1.2	14.1 ±	5.2
	3	15.1 ±	1.6	21.7 ±	1.8	9.8 ±	4.4
GRASA	1	0		0		0	
	2	60.5 ±	9.2	45.0 ±	1.4	0	
	3	55.0 ±	1.4	31.0 ±	3.6	0	
SUERO	1	0		0		0	
	2	219.1 ±	139.8	126.7 ±	47.0	25.0 ±	5.2
	3	251.0 ±	48.1	275.3 ±	76.6	44.0 ±	19.8

## PRIMER PERIODO

DIETA No. 1 = D1

DIETA No. 2 = D2

DIETA No. 3 = D3

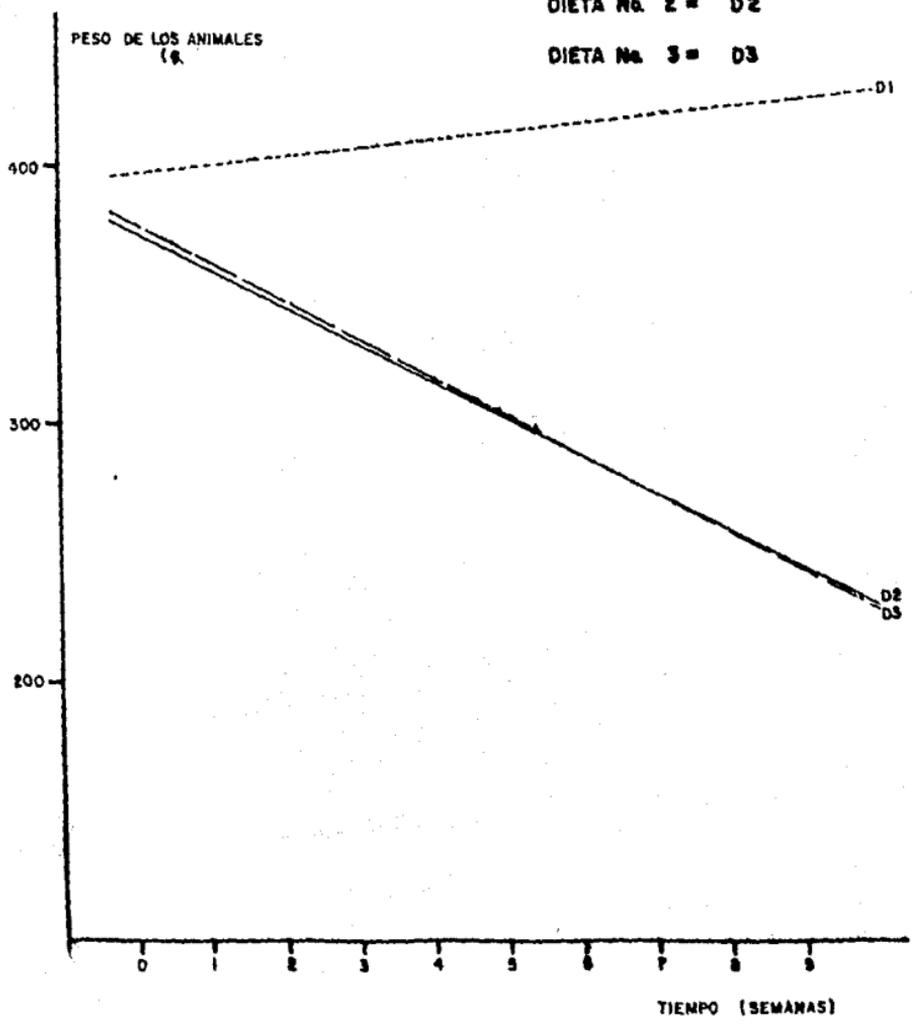


## SEGUNDO PERIODO

DIETA No. 1 = D1

DIETA No. 2 = D2

DIETA No. 3 = D3

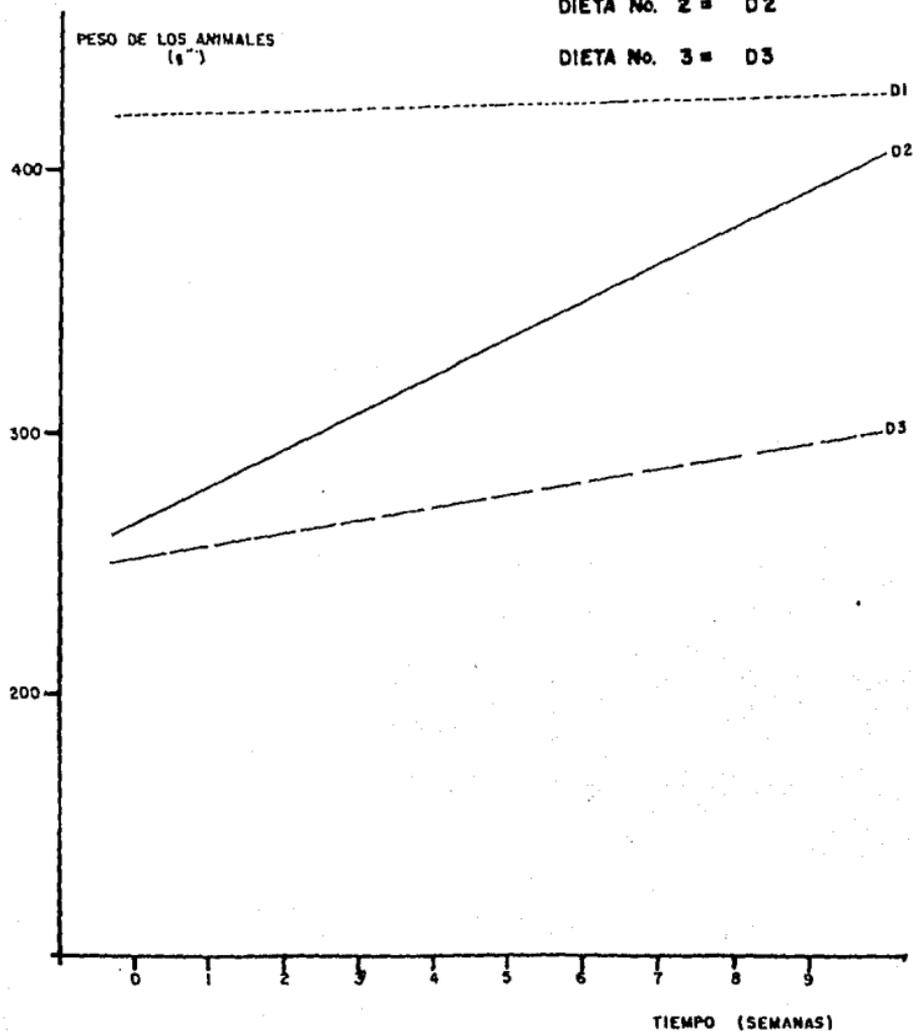


## RECUPERACION

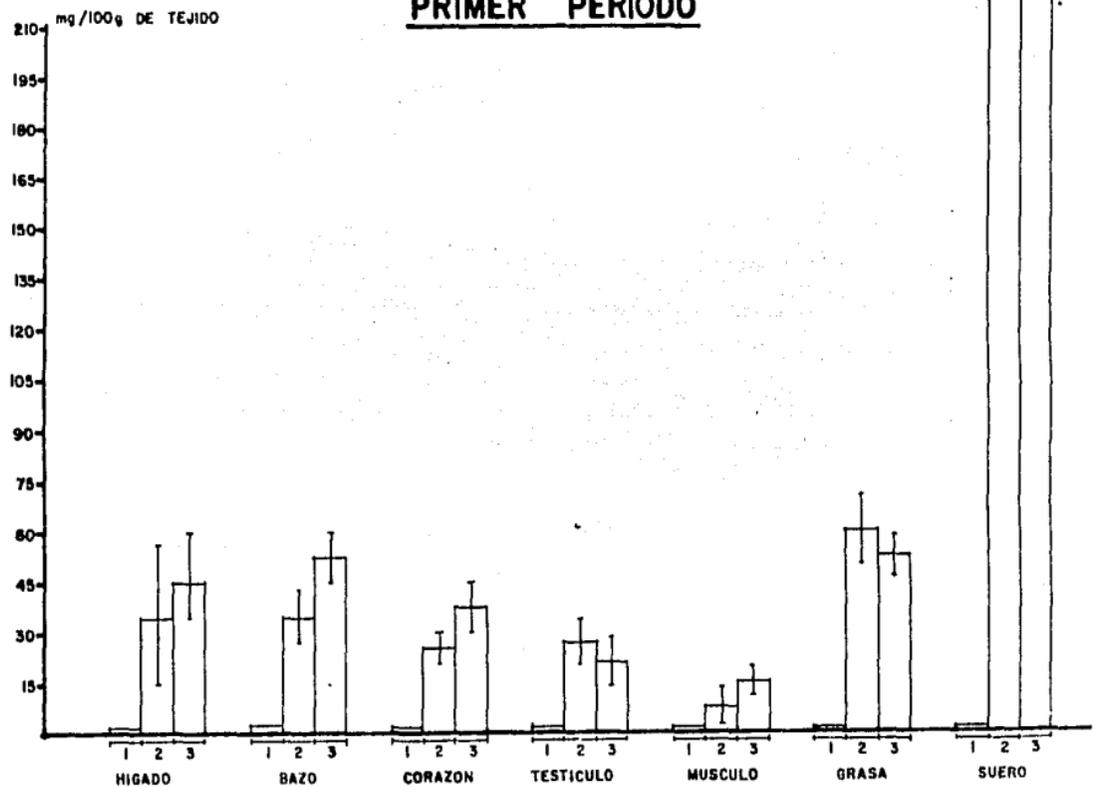
DIETA No. 1 = D1

DIETA No. 2 = D2

DIETA No. 3 = D3

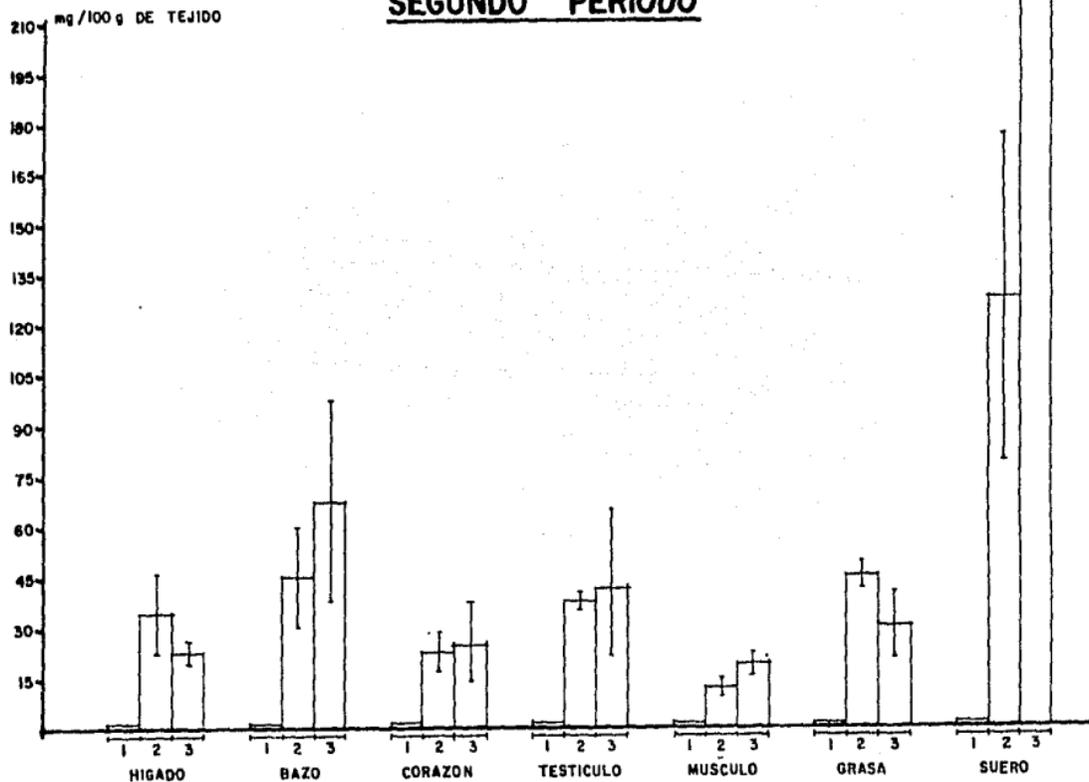


# PRIMER PERIODO



DIETA No. 1  
DIETA No. 2  
DIETA No. 3

## SEGUNDO PERIODO

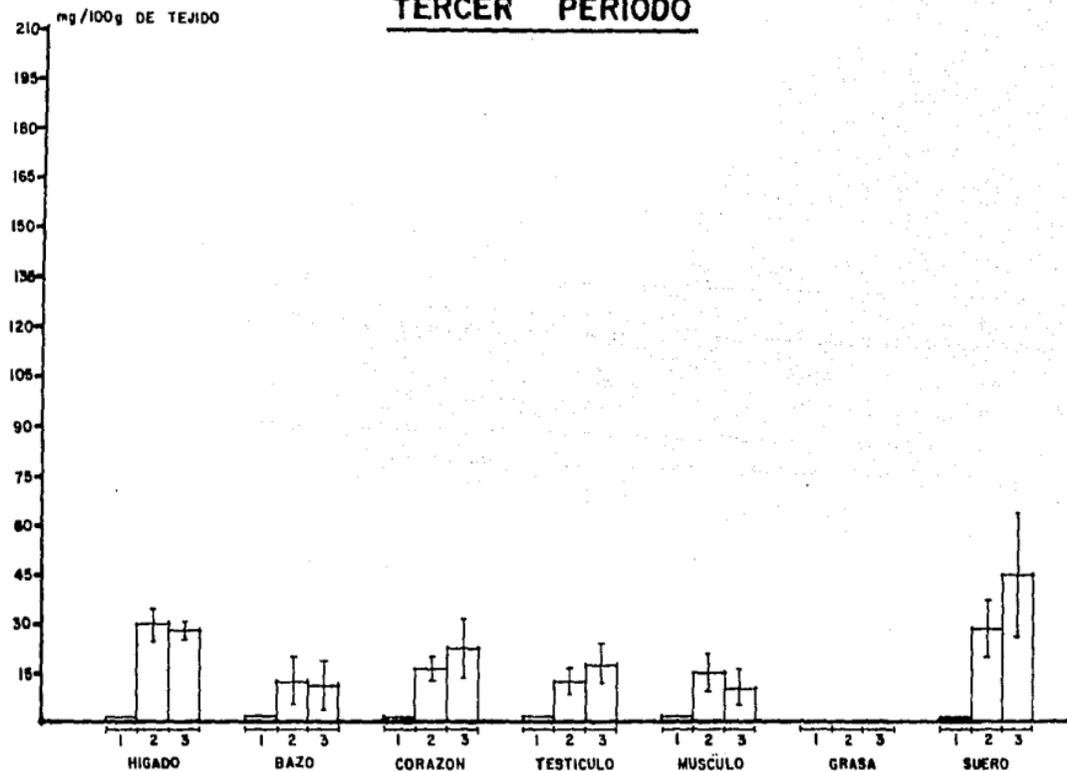


DIETA No. 1

DIETA No. 2

DIETA No. 3

## TERCER PERIODO



DIETA No. 1

DIETA No. 2

DIETA No. 3

## CONCLUSIONES.

LOS RESULTADOS ANTERIORES NOS LLEVAN A CONCLUIR EN EL PRESENTE TRABAJO LOS SIGUIENTES PUNTOS:

LOS DATOS OBTENIDOS EN EL ANÁLISIS BROMATOLÓGICO NOS DEMUESTRA QUE LA HARINA DE SEMILLA DE ALGODÓN COMPLETA ES RICA EN GRASA Y PROTEÍNAS, LO CUAL NOS SIRVE PARA ELABORAR DIETAS BALANCEADAS.

LA CONCENTRACIÓN DE GOSIPOL LIBRE VA A DEPENDER DEL TIPO DE EXTRACCIÓN QUE SE HAYA USADO PARA OBTENER EL ACEITE DE LA SEMILLA, YA QUE PUEDE HABER UNA VARIACIÓN EN LA CONCENTRACIÓN DEL TÓXICO.

UNO DE LOS EFECTOS PRODUCIDOS POR LA INGESTIÓN DE GOSIPOL LIBRE DENTRO DE LAS DIETAS ELABORADAS CON HARINA DE SEMILLA DE ALGODÓN AÚN EN CONCENTRACIONES NO TÓXICAS, ES EL DECREMENTO EN EL PESO CORPORAL DE LOS ANIMALES EN TRATAMIENTO, POSIBLEMENTE DEBIDO A LA PÉRDIDA DE APETITO. SIN EMBARGO LAS RATAS PUEDEN RECUPERAR SU PESO CORPORAL, DÁNDOLES OTRO TIPO DE DIETA QUE NO CONTENGA ESTE TÓXICO.

CABE HACER MENCIÓN QUE LA CANTIDAD DE GOSIPOL ACUMULADO Y EXCRETADA POR LAS RATAS DURANTE EL TRATAMIENTO, FUÉ DE UN

93% EL EXCRETADO POR VÍA FECAL, CON RESPECTO AL INGERIDO DURANTE EL TRATAMIENTO, Y EL ABSORBIDO ES ACUMULADO EN DIFERENTES ÓRGANOS. AUNQUE SE TRATÓ DE CONTRARESTAR EL EFECTO DEL GOSIPOL LIBRE CON LA VITAMINA E, SE OBSERVÓ QUE ÉSTANO INTERFIERE EN LA ABSORCIÓN DEL TÓXICO.

LA MAYOR ACUMULACIÓN DE GOSIPOL LIBRE DURANTE EL TRATAMIENTO FUÉ EN SUERO Y EN GRASA, Y LA DE MENOR ACUMULACIÓN FUÉ EN EL MÚSCULO.

DESPUÉS DE SOMETER A LAS RATAS DE TRATAMIENTO A UN TIEMPO DE RECUPERACIÓN SUMINISTRÁNDOLES DIETAS A BASE DE PURINA CHOW, SE DEMUESTRA QUE AÚN HAY RESTOS DE GOSIPOL AUCMLADO EN LOS TEJIDOS ANALIZADOS, SALVO EN GRASA EN DONDE NO SE DETECTÓ GOSIPOL LIBRE.

POR LO ANTERIORMENTE EXPUESTO SE PUEDE LLEGAR A CONCLUIR, QUE AUN SUMINISTRANDO DOSIS SUBTÓXICAS EN LAS DIETAS COMO FUE DURANTE ESTE TRATAMIENTO HAY UNA ACUMULACIÓN DE GOSIPOL LIBRE EN DIFERENTES ÓRGANOS Y QUE ÉSTE ES DETECTABLE AUN DESPUÉS DE OCHO SEMANAS DE RECUPERACIÓN, LO CUAL INDICA QUE LOS ANIMALES NECESITAN UN PERÍODO DE RECUPERACIÓN MÁS LARGO PARA ELIMINAR TOTALMENTE EL TÓXICO DEL ORGANISMO.

## BIBLIOGRAFIA

- 1) ABOU-DONIA, M.B. PHYSIOLOGICAL EFFECTS AND METABOLISM OF GOSSYPOL. RESIDUE REV. 1976, 61: 126-160 N.Y.
- 2) ABOU-DONIA, M.B., AND J.W. DIECKERT. METABOLIC FATE OF GOSSYPOL: THE METABOLISM OF (<sup>14</sup>C) GOSSYPOL IN SWINE. TOXICOL. APPL. PHARMACOL. 1975, 31: 32-46.
- 3) ABOU-DONIA, M.B. AND C. F. LYMAN AND J.W. DIECKERT METABOLIC FATE OF GOSSYPOL: THE METABOLISM OF <sup>14</sup>C GOSSYPOL IN RATS. LIPIDS 5(11): 938-946. 1970.
- 4) ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMIST, "OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS". WASHINGTON, D.C. 12A, ED., 1975 (2.051, 7.057, 7.048, 14.003, 14.006).
- 5) ADAMS, R. AND T.A. GEISSMAN. GOSSYPOL, A PIGMENT OF COTTONSEED. CHEM. REV. 1976, 61:555-574.
- 6) BÉHAR, M. AND R. BRESSANI. RECURSOS PROTEÍNICOS EN AMÉRICA LATINA. INCAP 1971. 353-354.
- 7) BRESSANI, L.C. HUMAN NUTRITION AND GOSSYPOL. PARFR WORKSHOP ON GOSSYPOL 1981. CHICAGO, ILLINOIS.
- 8) BRESSANI RICARDO, ANSELMO ABURTO, GÓMEZ BRENAS R. EFECTO DEL GOSIPOL LIBRE DE DIFERENTES HARINAS DE ALGODÓN SOBRE EL CRECIMIENTO DE RATAS Y NIVELES DE LISINA Y GOSIPOL LIBRE EN ÓRGANOS, MÚSCULO Y SUERO DE ANIMALES. INCAP, GUATEMALA, C.A. 1974.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

- 9) CHANG, M.C., P.G. SHI AND S.K. SAKSENA. EFFECTS OF GOSSYPOL ON THE FERTILITY OF MALE RATS, MANSTERS AND RABBITS. CONTRACEPTION 1980. 21(5): 461-469.
- 10) CLAWSON, A., J., J.H. MANER; G. GÓMEZ; O MEJÍA; A. FLORES AND BUI-TRAGO. UNEXTRACTED COTTONSEED IN DIETS FOR MONOGASTRIC ANIMAL. 1. THE EFFECT OF FERROUS SULFATE AND CALCIUM HYDROXIDE IN REDUCING - GOSSYPOL TOXICITY. J. ANIM. SCI. 1975. 40(4): 640-647.
- 11) CAMPBELL KN, MORRIS RC, ADAMS R: THE STRUCTURE OF GOSSYPOL POL.I.J. AM CHEM SOC 59: 1723-1937.
- 12) CLARK EP: STUDIES ON GOSSYPOL: A PROGRESS REPORT. OIL FAT IND. 6:15 19, 1929.
- 13) DAI R-X, PANG S-N, LIU Z-L: STUDIES ON THE ANTIFERTILITY EFFECT OF GOSSYPOL II. A MORPHOLOGICAL ANALYSIS OF THE ANTIFERTILITY EFFECT OF GOSSYPOL. ACTA BIOL EXP SINICA 11-27 - 30. 1978.
- 14) EAGLE E. CHRONIC TOXICITY OF GOSSYPOL. SCIENCE 109:361 1949.
- 15) EAGLE E. EFFECT OF REPEATED DOSES OF GOSSYPOL ON THE DOG ARCH BIOCHEM BIOPHYS. 26:68 - 71, 1950.
- 16) EAGLE E, BIALEK HF: EFFECT OF SINGLE AND REPEATED DOSES OF GOSSYPOL ON THE RAT. FOOD RES 15:232 - 236, 1950.
- 17) EDWARD, J. D. JR. SYNTHESIS OF GOSSYPOL AND GOSSYPOL DERIVATIVES. J. AMER OIL CHEM SOC. 47(11):441 - 442, 1970.
- 18) GERALD I ZATUCHNI, M.D., MSc. GOSSYPOL, A POSSIBLE MALE ANTIFERTILITY AGENT REPORT OF A WORKSHOP, 1981, CHICAGO ILLINOIS.

- 19) HARPER GA, PHELPS RA, JONES LA. EFFECTS OF DIET AND OTHER FACTORS UPON THE PHYSIOLOGICAL EFFECTS OF GOSSYPOL. PRESENTED AT PARFR WORKSHOP ON GOSSYPOL. PROGRAM FOR APPLIED RESEARCH ON FERTILITY REGULATION, MARCH 11, 1980, CHICAGO, ILLINOIS.
- 20) KALLA, N.R. AND VASUDEV. STUDIES ANTIFERTILITY AGENT GOSSYPOL ACETIC ACID: I IN CITRO STUDIES ON THE EFFECTS OF GOSSYPOL ACETIC ACID IN HUMAN SPERMATOZOA IRCS. MED SCI BIOCHEM. 8: 375-376.
- 21) KALLA, N. R., M. VASUDEV AND G. ARORA. STUDIES ON THE MALE ANTIFERTILITY AGENT GOSSYPOL ACETIC ACID. III EFFECT OF GOSSYPOL ACETIC ACID ON RAT TESTIS. ANDROLOGY, 13-242. 1981.
- 22) MARK, A. HADLEY, YOUNG C. LIN, AND MARTIN DYM. EFFECTS OF GOSSYPOL ON THE REPRODUCTIVE SYSTEM OF MALE RATS. J. ANDROLOGY, 2: 190-199, 1981.
- 23) MERCK INDEX, 8TH EDITION. RAHWAY, NJ, MERC & CO, 1968, P505.
- 24) NADAKAVUKAREN, M.J. R.H. SORENSEN AND J.N. TORE EFFECT OF GOSSYPOL ON THE REPRODUCTIVE SYSTEM OF MALE RATS. 1984, J. ANDROLOGY, 2: 190-199.
- 25) NATIONAL COORDINATING GROUP OF MALE ANTIFERTILITY AGENTS. GOSSYPOL A NEW ANTIFERTILITY AGENT FOR MALES. CH. MED. J. 1978, 4(16): 417-428.
- 26) POSO H, WITHMAN K, JANNE J, LUUKKAINEN T. GOSSYPOL, A POWERFUL INHIBITOR OF HUMAN SPERMATOZOAL METABOLISM. LANCET 1980 2: 885-886.
- 27) PRASAD M.R.N. AND E. DICZFALUSY. GOSSYPOL. INTERNATIONAL JOURNAL

OF ANDROLOGY SUPPLEMENTUM (5) 1982.

- 28) SINGLETON, V. L. AND F.H. KRATZER. PLANT PHENOLIC IN TOXICANTS OCCURRING NATURALLY IN FOODS. NATIONAL ACADEMICS OS SCIENCES. WASHINGTON, D.C. 1973.1318-323.
- 29) SOTELO, A. I. MONTALVO M.L. CRAIL AND M. T. GONZÁLEZ. INFERTILITY IN MALE RATS INDUCED BY DIETS CONTAING WHOLE COTTON SEED FLOUR. J. NUTR. 1982. J. NUTR. 112 (11) 2052-2057.
- 30) TONE, J. N. AND D. R. JENSEN. THE ACCUMULATION PATTERN INGESTED GOSSYPOL IN SELECT ORGANS OF THE RATS. EXPERIENTIA 15 (3); 369-371.
- 31) YANG, H.C. AND D.D. DAVIS. VARIATIONS IN GOSSYPOL CONCENTRATION OF FLOWER BUDS OF COTTON. CROP SCI. 16; 485-488.
- 32) LIENER, I.E. FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY TOXIC CONSTITUENT OF PLANT FOODSTUFFS. ACADEMY. PRESS NEW YORK, 1969 211-266.
- 33) ASOCIACIÓN DE QUÍMICA DE VITAMINA, INC. MÉTODO DE ANÁLISIS DE VITAMINAS. ED. ACADIA DE ESPAÑA, 1969.
- 34) VITAMINA E. AND SEX BEHAVIOR IN MICE. DELVERT D, THIESSEN GENE ONDRUSEK AND ROBÍN V.C. UNIVERSITY OF TEXAS DEPARTAMENT OF PSYCHOLOGY AUSTIN, TEXAS.
- 35) VITAMINA E. AND SEX BEHAVIOR IN MICE. DELVERT D, THIESSEN GENE ONDRUSEK AND ROBÍN V.C. UNIVERSITY OF TEXAS DEPARTAMENT OF PSYCHOLOGY AUSTIN, TEXAS.