

271

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

LA UTILIZACION DE LA HARINOLINA EN LA  
ALIMENTACION DE LAS AVES

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA  
P R E S E N T A :  
MARINA MAGDALENA TÉLLEZ SANTOS  
ASESORES: MVZ. ERNESTO AVILA G.  
MVZ. ARMANDO ANTILLÓN R.

MÉXICO, D.F., 1984



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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 esta 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.

# I N D I C E

Página

## RESUMEN

1.0	INTRODUCCION.....	1
2.0	VALOR NUTRICIO Y COMPOSICION QUIMICA DE LA HARINOLINA..	7
2.1	Generalidades sobre Diferentes Tipos de Harinolina.....	7
2.2	Valor Nutritivo de la Harinolina.....	15
2.3	Presencia del Gosipol en la Pasta de Algodón y su Importancia.....	20
2.4	Pigmentos del Gosipol.....	21
2.5	Glándulas Productoras del Pigmento.....	28
2.6	Influencia Genética y del Medio Ambiente sobre el Contenido de Gosipol.....	30
2.7	Semilla de Algodón sin glándulas.....	32
2.8	Pigmentos del Gosipol en Productos Protéicos en Harinolinas.....	36
2.9	Pigmentos de Gosipol en "Soapstock" de Aceite de Algodón.....	37
3.0	UTILIZACION DE LA HARINOLINA EN LA ALIMENTACION DE POLLO DE ENGORDA.....	39
3.1	Resultados de Experimentos sobre Toxicidad de Gosipol..	40
3.2	Hallazgos Patológicos.....	65
3.3	Lesiones Microscópicas.....	67
3.4	Lesiones Macroscópicas.....	70
3.5	Métodos para Detoxificar la Harinolina y Mejorar su Calidad en Dietas para Pollos.....	72
3.6	Cantidades Toleradas de Gosipol.....	77
4.0	UTILIZACION DE LA HARINOLINA EN LA ALIMENTACION DE GALLINAS DE POSTURA.....	79
4.1	Resultados de Experimentos sobre la Toxicidad de Gosipol.....	79

4.2	Alteraciones sobre la calidad Interna del Huevo.....	101
4.3	Hallazgos Patológicos Microscópicos.....	117
4.4	Hallazgos Patológicos Macroscópicos.....	120
4.5	Métodos para Detoxificar la Harinolina y Mejorar su Calidad y Aprovechamiento en Dietas de Aves.....	120
4.6	Cantidades Toleradas de Gosipol.....	124
5.0	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	126
	LITERATURA CITADA.....	128

LISTA DE CUADROS

		Pág.
Cuadro	1 Principales países productores de algodón en orden decreciente.	3
Cuadro	2 Principales zonas productoras de semilla de algodón en la República Mexicana.	4
Cuadro	3 Principales métodos utilizados para la extracción del aceite dentro de la República Mexicana (Información preliminar).	6
Cuadro	4 Composición analítica de las harinolinas producidas por diferentes procesos (medios ajustados).	18 y 19
Cuadro	5 Efecto del gosipol libre sobre el crecimiento, mortalidad y eficiencia alimenticia de los pollos.	48
Cuadro	6 Efecto de diferentes niveles de proteína y gosipol libre sobre el peso de pollos New Hampshire de 4 semanas de edad.	52
Cuadro	7 Efecto de diferentes niveles de proteína y gosipol libre sobre el peso de pollos White Plymouth Rock de 4 semanas de edad.	53
Cuadro	8 Comportamiento de los pollos hasta las 8 semanas de edad alimentados con dietas conteniendo harinolina.	55
Cuadro	9 Crecimiento de pollos de engorda a las 4 semanas con raciones conteniendo gosipol y hierro.	58
Cuadro	10 Experimentos de alimentación con harinolina pre-sada hidráulicamente.	60
Cuadro	11 Crecimiento y eficiencia alimenticia de los pollos a la cuarta semana.	62
Cuadro	12 Niveles altos de gosipol libre en dietas de gallinas, efecto sobre la producción de huevo y el peso de los mismos (experimento 1).	83

Cuadro	13	Efecto de la harinolina sobre el % de producción de huevo, y eficiencia alimenticia.	89
Cuadro	14	Efecto del gosipol sobre el comportamiento de las gallinas de postura durante el período de 84 días de prueba de alimentación ( prueba 2 ).	90
Cuadro	15	Efectos de varias proporciones de pasta de soya y harinolina sin glándulas sobre varias características de producción en gallinas de postura.	92
Cuadro	16	Efecto de diferentes niveles de gosipol libre con la suplementación en la dieta de gallinas de postura.	94
Cuadro	17	Comportamiento de pollitas de reemplazo alimentadas con dietas de crecimiento con diferentes niveles de harinolina y suplementación limitada de aminoácidos.	100

## LISTA DE ESQUEMAS

		Página
Esquema 1	Tratamiento de la semilla de algodón procesada por prensado (expellers).	12
Esquema 2	Tratamiento de la semilla de algodón, procesada por solventes.	13
Esquema 3	Estructura química del gossypol y formas equilibradas.	22
Esquema 4	Estructura química de gossypurpurina .	26
Esquema 5	a) Semilla de algodón, b) sección transversal y c) sección longitudinal de la semilla de algodón.	29

## R E S U M E N

### "LA UTILIZACION DE LA HARINOLINA EN LA ALIMENTACION DE LAS AVES" (Revisión bibliográfica)

Autor : Marina Magdalena Téllez Santos  
Asesores : MVZ. Ernesto Avila González  
MVZ. Armando Antillón Rionda

La revisión bibliográfica presente, resume parte de la información existente acerca de la utilización alimentaria de un subproducto de la industria aceitera llamado harinolina, con siderándose su importancia económica, composición química, efec tos tóxicos, niveles de tolerancia, tanto en pollo de engorda como en gallina de postura. Asimismo se dan algunas recomenda - ciones prácticas para su empleo dentro de la industria alimenta ria mexicana, ya que se considera a este subproducto una fuente aceptable de proteína ( 40% ) de bajo costo, comparada con la pasta de soya ( 45% de proteína ) y alto precio; sin embargo, uno de los factores limitantes de su uso en forma más extensiva sigue siendo el " gosisol ", el factor importante para su libre empleo en dietas para aves.

## 1.0 INTRODUCCION

A partir de la década de los 50's, el desarrollo de la avicultura en nuestro país ha tomado gran importancia, ya que cada vez, la población humana requiere de mayores cantidades de alimentos de origen animal, siendo desde el punto de vista económico la proteína del huevo y de la carne de pollo las más económicas. De esta manera, el estudio realizado trata de contribuir en parte a un mejor aprovechamiento de los recursos naturales e industriales para lo cual se señalan las características de un subproducto como es la harina o pasta de algodón (harinolina) como fuente de proteína para la alimentación de las aves (pollo de engorda y gallina de postura) que puede optimizar los costos de producción en la fabricación de alimentos balanceados, ya que éstos representan del 75 al 80 % de los costos totales ( 3 , 18 ).

La harinolina es un subproducto de la industria de la extracción del aceite de la semilla de algodón, el cual se ha utilizado durante muchos años en la alimentación de rumiantes sin causar ningún daño (24, 31); sin embargo, su empleo en dietas de aves y cerdos es más limitado debido a sus efectos tóxicos (7, 23).

El uso de niveles elevados de pasta de algodón, produce disminución en la conversión alimentaria en pollos y daña principalmente al sistema hematopoyético, produciendo una anemia de tipo hemolítico y las consecuencias que esto ocasiona, debido a que contiene una sustancia tóxica llamada "gosipol" (20, 25, 52). Además de estos daños, las gallinas que son alimentadas con un alto porcentaje de esta pasta, producen huevos con una coloración verde oliva en la yema y rosa salmón en la clara después de un período corto de almacenamiento, así como una disminución en la incubabilidad (18, 20, 52).

Aparentemente estos efectos hacen tanto en el pollo de engorda como en la gallina de postura, que la harinolina no sea adecuada para esta especie; sin embargo tiene gran importancia como subproducto, ya que contiene un elevado % de proteína (40-50%) y podría competir, si se maneja apropiadamente, con la pasta de soya (44-50%); siendo la ventaja de la primera su bajo costo con respecto a la segunda, tomando en cuenta su principal limitante el gopisol, al preparar una ración para aves (7, 31).

La harinolina se ha utilizado en varios países como Egipto, los Estados Unidos, Francia, la India, donde existe una alta producción, habiendo probado su utilidad como fuente de proteína dentro de la alimentación de monogástricos, con lo que se ha disminuído el costo de producción y se ha aprovechado el recurso existente (18, 34).

Importancia económica de la harinolina dentro de la producción de semilla de algodón en la República Mexicana.

El cultivo del algodón en México es una fuente importante de divisas para el país; por muchos años su exportación ha sido significativa tanto por su cantidad como por la calidad de su fibra, la que es muy apreciada en el mercado internacional (41).

En el cuadro 1, se presentan los principales países productores de algodón; se observa que México es uno de los países con mayor rendimiento de algodón en hueso o semilla por Ha, tanto respecto a América como a nivel mundial.

En México (cuadro 2), se siembran de 385 a 450 mil Ha. anuales y se producen de 1.5 a 2 millones de pacas, estando la mayor superficie localizada en los estados de Sonora, Baja Cali

Cuadro 1

PRINCIPALES PAÍSES PRODUCTORES DE ALGODÓN EN ORDEN DECRECIENTE 1977 (17)

PAIS	SUPERFICIE COSECHADA EN HA.	RENDIMIENTO POR HA.	PRODUCCION EN TONS.
Asia	1 5 596 000	973	15 179 000
Norte y Centro América	6 192 000	1 632	10 107 000
U.R.S.S.	2 992 000	2 928	8 760 000
E.U.A.	5 366 000	1 523	8 174 000
China	4 856 000	1 447	7 026 000
Africa	4 474 000	789	3 528 000
Sudamérica	3 547 000	972	3 446 000
Brasil	2 145 000	875	1 876 000
Pakistán	1 902 000	855	1 626 000
Egipto	611 000	1 874	1 145 000
México	386 000	2 461	950 000
Europa	324 000	2 042	662 000
Grecia	183 000	2 306	422 000
Nigeria	567 000	388	220 000
Uganda	591 000	229	135 000
Oceanía	34 000	2 187	74 000
Mundial	33 159 000	1 259	41 757 000

Cuadro 2

PRINCIPALES ZONAS PRODUCTORAS DE SEMILLA DE ALGODÓN EN LA REPÚBLICA MEXICANA\*(8)

ZONAS ALGODONERAS	HECTAREAS	PACAS	SEMILLA
Sonora	84 524	368 991	130 000
B.C.N y Sonora	86 661	349 993	115 000
Mexicali y S.L.R.C.			
Comarca Lagunera	57 287	292 670	100 000
Sinaloa	36 000	137 940	50 700
Chihuahua	36 266	191 940	38 500
B.C.S.	16 912	84 150	30 000
Chiapas	20 371	44 788	27 000
Apatzingan, Mich.	4 500	12 006	5 000
Tamaulipas	3 786	7 460	2 800
Morelos	1 000	3 200	1 000
Oaxaca	408	630	250
	<hr/> 347 597	<hr/> 1 423 708	<hr/> 506 250**

\* Período comprendido del 1o. de Julio al 30 de Junio de 1982

\* \* Esta cantidad de semilla trae consigo la producción de 231 000 toneladas de pasta de algodón aproximadamente (Canacintra, 1981)

Fornia Norte y Coahuila, donde se cultivan principalmente las siguientes variedades :

Deltapine 16, 80 y Smooth leaf

Stoneville 7 A, 213, 625

Coker 310, 312 y Carolina Queen

Acala 1517 C, 4-44 y 442, por su mayor rendimiento, precocidad, resistencia, calidad de la fibra, etc., asimismo, se encuentran algunas especies silvestres como Gossypium thurberi, G. harknessii, G. armourianum, G. davidsonii, G. lobatum, G. laxum, G. aridum, G. trilobum, G. gossypoides (41).

Un producto importante del cultivo del algodón, además de la fibra es la semilla de algodón que se caracteriza por un alto contenido de proteína (26%) y de energía (25 % de aceite) y por lo tanto, después de extraído el aceite se obtiene un subproducto conocido como pasta de algodón o harinolina de gran valor para la alimentación animal.

La utilización de la pasta o harina de algodón (harinolina) para la preparación de alimentos concentrados se ha incrementado a medida que la producción de aceite de semilla de algodón se ha desarrollado, y los efectos adversos tanto de pobre calidad o toxicidad del subproducto han sido superados. Debido al ciclo productivo del algodón (10 meses), las plantas procesadoras de aceite son substituidas (9), existiendo en nuestro país 101 industrias aceiteras en operación, pero es probable que existan aproximadamente 27 industrias actualmente cerradas (41). En el cuadro 3, aparecen las principales plantas extractoras y el tipo de extracción del aceite para la semilla de algodón en México.

Cuadro 3

PRINCIPALES MÉTODOS UTILIZADOS PARA LA EXTRACCIÓN DEL ACEITE DENTRO DE LA  
REPÚBLICA MEXICANA (INFORMACIÓN PRELIMINAR). (16).

ENTIDAD	NOMBRE DE LA PLANTA	TIPO DE EXTRACCIÓN
B.C.N.	Industrias Conasupo	Prensa hidráulica
B.C.S.	Aceitera B. Calif.	Prensa mecánica
Coahuila	Aceitera Continental	Filtro prensa y expeller
	La Unión Cía. Jabonera	Filtro prensa
Chihuahua	Anderson Clayton	Filtro prensa
Durango	Industrias Conasupo	Solventes
	La Esperanza S.A.	Solventes
Jalisco	Ind. de la Peña	Solventes
Michoacán	Aceitera Tepalcatepec	Prensa hidráulica
Nuevo León	Raúl García y Cía.	Filtro prensa 50% solventes 50 %
Sinaloa	Anderson Clayton Co.	Solventes
	Aceitera y derivados del Pacífico	Filtro prensa 50 % solventes 50%

Datos obtenidos por el autor de la Dirección General de Economía Agrícola. 1980.

2.1 Generalidades sobre Diferentes tipos de Harinolina.

La pasta de algodón o harinolina, es el subproducto que se obtiene después de la extracción del aceite de semilla de algodón, y se considera como fuente útil de aporte protéico para la alimentación animal (11, 23, 24, 35, 43).

El procesamiento comercial de la semilla de algodón para obtener aceite se lleva a cabo por varios métodos, los cuales son: prensa con tornillos (expeller), solvente directo, preprensa solvente (11, 45, 52, 21); algunos autores consideran uno más, prensa hidráulica (23, 35, 44, 59), aunque este último tiende a desaparecer (31). En general se considera a la harinolina que se obtiene por prensa con tornillos, relativamente alta en lípidos residuales y gosispol libre, y moderada a alta en calidad de la proteína. La de solvente directo produce la pasta más alta en calidad de la proteína y moderada en aceite residual, y la más alta en gosispol libre (11, 21, 35, 36, 59). El método de prensa hidráulica se considera semejante al de prensa con tornillos.

El rendimiento por tonelada de semilla de algodón en los diferentes subproductos resultantes de la extracción del aceite es el siguiente: Aceite 147-180 Kg; pasta de algodón 400-600 Kg; cáscaras 200-250 Kg; fibra corta, borra o pelusa 30 Kg. a 80; impurezas 4-6 Kg. (9, 11, 24).

Las principales causas que limitan la calidad de su proteína son los procesos industriales ineficientes (7), reflejándose en productos de alto contenido en fibra, aceite y gosispol, y por ende baja calidad protéica.

Per otra parte, la utilización de pasta de algodón de calidad adecuada para la preparación de alimentos concentrados para aves, ofrece importantes ventajas nutricionales y económicas en muchas partes de Estados Unidos y Latinoamérica. Con ciertas precauciones para prevenir los efectos tóxicos y suplementando las raciones con los nutrientes deficientes, pueden emplearse niveles altos de pasta de algodón tanto para la nutrición de ruminantes como de monogástricos (23, 32).

La composición química de la harinolina depende en su mayor parte del proceso industrial para producirla, aunque la variedad de la semilla tiene gran influencia sobre el contenido de gopiol (6, 7, 22, 52). Aún con iguales métodos de extracción, se presentan notables diferencias en el subproducto ofrecido por las fábricas extractoras de aceite.

Uno de los objetivos durante el procesamiento de la semilla de algodón es la unión del gopiol libre en la harina, al mismo tiempo previniendo que los pigmentos sean eliminados en el aceite; igualmente, el daño a la proteína tiene que ser prevenido o al menos reducido. Las variaciones en el contenido de gopiol total y libre en las harinas se deben a las diferencias en el contenido de gopiol de la semilla, así como a las condiciones utilizadas en el procesamiento. Se ha observado sin embargo, que las condiciones de procesamiento influyen sobre el contenido de gopiol libre en la harinolina en mayor grado que sobre el contenido de gopiol total (15, 24). Se reconoce que las harinolinas comerciales son generalmente menos tóxicas que la semilla original, debido al calor y humedad usado durante el procesamiento, lo cual facilita la ruptura de las glándulas de pigmento, la liberación de gopiol libre y la subsecuente ligadura de este último con la proteína para formar gopiol ligado no tóxico. Consecuentemente hay un gran sacrificio en la calidad de la proteína como resultado de la humedad y calor aplicado durante el procesamiento de la semilla para la recuperación del aceite (52).

El procesamiento de la semilla sigue líneas similares con todos los procedimientos aunque cada molino opera bajo condiciones seleccionadas específicamente para obtener máxima eficiencia y productos de la más alta calidad con la semilla disponible. En los molinos, primero es limpiada la semilla de algodón, en mayor o menor proporción. Después es eliminada la pelusa (fibra corta o plumón), que queda adherida a la semilla por máquinas desfibradoras para eliminar las hilachas de algodón, se separan de este los tegumentos coriáceos por medio de máquinas especiales con el fin de desprender la almendra o pepita. Este procedimiento de limpiar la semilla y quitar la fibra se llama desborrado y el de separar los tegumentos coriáceos se llama descascarillado. No en todas las variedades de semillas se puede lograr un completo resultado de estas operaciones previas, pues en muchos de ellos, la fibra corta, pelusa o borra que los envuelve es de difícil separación y en algunas fábricas, para facilitar la extracción se hace un descascarillado incompleto. En otras, es solo parcial y en algunas se utilizan las semillas completas, resultando toda una gama de pastas de algodón cuya composición y valor nutritivo varían en relación con la cantidad de cáscara que conserven, reflejándose directamente su % sobre el contenido proteico, de lo que resultará que cuanto mayor sea la cantidad de cáscara que las pastas contengan, menor será la riqueza proteica, la digestibilidad y consecuentemente el valor nutritivo total del residuo (18).

En las pastas de algodón, en relación a su contenido de cáscara se distinguen 4 tipos (18):

- a) De semillas decorticadas. Son las de mayor valor alimenticio, de contextura homogénea, harinosas, o finamente granuladas, de color amarillo verdoso con muy pocas moteaduras oscuras (restos de cáscara); se fracturan con relativa facilidad.

- b) De semillas semidecorticadas. Proceden de semillas a las que parcialmente se les ha privado de la cáscara; el color varía con la cantidad de cubierta y son mejores las de color más claro.
- c) De semillas sin decorticar. Contienen toda la cubierta de la semilla; son de un color mucho más oscuro apreciándose a simple vista los fragmentos incluidos en una masa amarillenta formada por el resto de la semilla; su valor nutritivo es muy inferior por su elevado contenido de energía bruta, que rebaja la digestibilidad de los demás principios.
- d) De semillas sin decorticar y sin desborrar. Son totalmente impropias para la alimentación de los animales; por una parte por su mayor toxicidad y por la otra porque las fibras de algodón indigestibles se acumulan en el intestino formando pelotones que producen obstrucciones mortales.

La pepita sin cáscara es procesada posteriormente para la eliminación del aceite por cualquiera de los métodos antes mencionados. El laminado o "rolado" de la semilla es esencial para el cocimiento efectivo y une algo de el gosisol libre, durante este proceso.

La pasta resultante por medio del sistema hidráulico tiene un contenido aproximado de aceite de 4.5 - 7.5 % y un contenido de gosisol libre de 0.04 - 0.10 %.

En el sistema de extracción por presión de tornillos, el contenido de aceite de la pasta por presión varía de 2 % a 5% aproximadamente y el gosisol libre de 0.02 a 0.05 % (59).

En la extracción con disolventes (hexano), este método extrae más completamente el aceite, que los otros dos, dejando ape

nas un residuo del 0.5 a 1.5 %.

Para extracción pre prensa solvente, la pasta extraída contiene de 0.4 a 1.0% de aceite y 0.02 a 0.07 % de gopiol li - bre.

Dado que, la harina o la pasta de algodón se emplean principalmente como elementos proveedores de proteínas, se clasifican y venden sobre la base de su riqueza garantizada (36 a 41 % de proteína), aparte su calidad general (18).

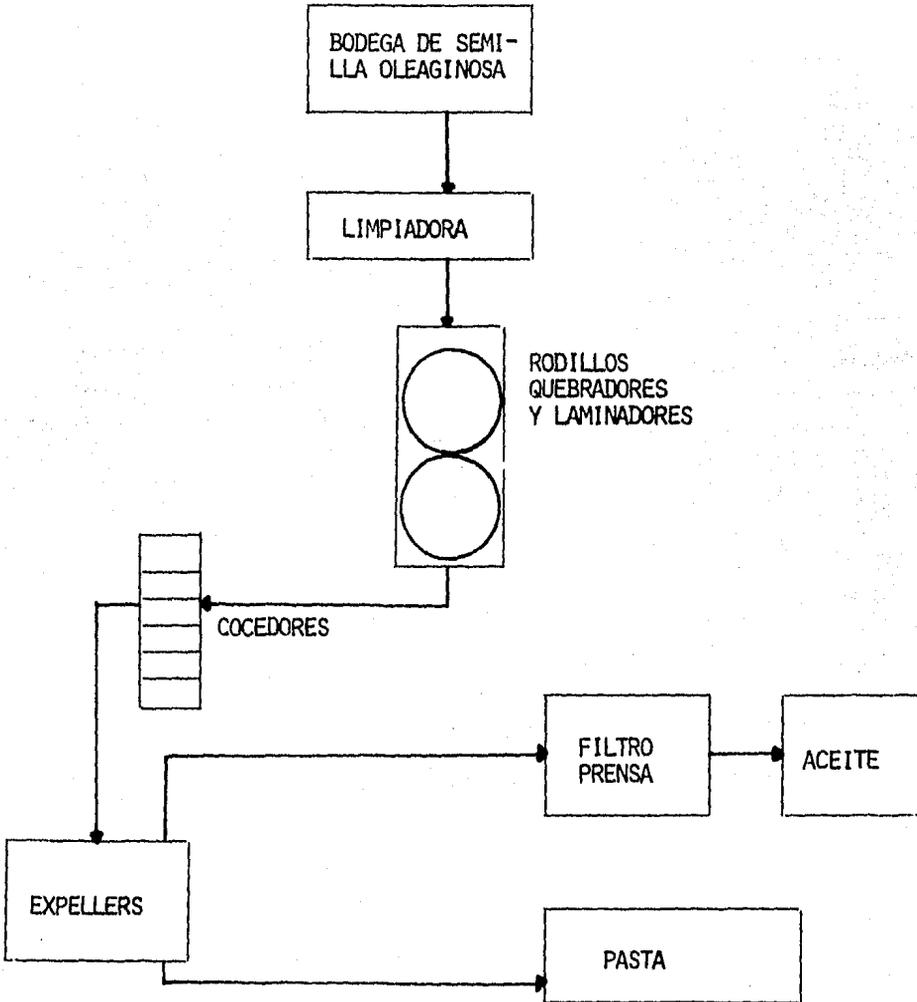
En los esquemas 1 y 2, se muestra a grandes razgos el procesamiento que sigue la semilla de algodón hasta la obtención de la harinolina por medio de prensa y solventes.

El contenido de gopiol total de la harinolina depende primariamente de la semilla utilizada y las condiciones previas de preparación de la semilla, anterior a la extracción del aceite, y está en un rango de 0.5 - 1.2 %. El gopiol ligado es igual a la diferencia entre el gopiol total y el gopiol libre. En algunas plantas de extracción con solventes directos, las pepitas no son cocidas antes de la extracción. La eliminación de gopiol por otros solventes además del hexano (usado más comunmente) se han estudiado, dentro de los cuales se encuentran: acetona, butanona, dioxano etanol, isopropanol, mezclas de agua con acetona, etanol o isopropanol, mezclas de etanol-hidrocarbon y varias mezclas de solventes ternarios, incluyendo acetona-hexano y agua, metanol-hexano-agua (24).

Aunque dichos solventes han sido generalmente útiles en reducir el contenido de gopiol de las harinolinas a muy bajos niveles, en molinos de semilla de algodón de los Estados Unidos, todavía no han adoptado ninguno de estos solventes, por sus problemas técnicos y/o económicos. Se han utilizado algunos procedimientos

ESQUEMA I

TRATAMIENTO DE LA SEMILLA DE ALGODÓN PROCESADA POR PENSADO  
(EXPELLERS) (43)





como el procesamiento Vaccarino, descrito en 1961 y 1965 usando acetona, el cual tuvo un éxito comercial limitado en Sicilia. Otro proceso, patentado por Rice en 1952 en donde el gopisol era ligado firmemente en harinolina terminada por la adición de anilina; este método estuvo en uso comercial en los años 50's y el producto era vendido como harinolina degosipolizada. En esta modificación de un proceso de extracción directa, la harina libre de aceite fue tratada con anilina, la cual se combinó con el gopisol. Excesos de anilina fueron eliminados por destilación al vapor y el producto de la reacción anilina-gopisol fue retenido en la harina, aunque podría ser eliminado por extracciones adicionales si se deseara. También han sido sugeridos para la producción de harinolinas con bajos contenidos de gopisol libre y total, el uso de aminas alifáticas adicionadas a las pepitas de semillas de algodón para el propósito de formar complejos amino solubles con los pigmentos del gopisol, los cuales podrían ser eliminados por extracción con solventes.

La harina de algodón degosipolizada fue inicialmente definida por las reglas del tratado de la Asociación Nacional de Productores de Pasta de Algodón de los Estados Unidos, como harinolina en la cual el gopisol ha sido inactivado así como a contener no más de 0.04 % de gopisol libre. Posteriormente el término harinolina baja en gopisol ha sido utilizado para designar harinolina conteniendo no más del 0.04 % de gopisol libre (24).

Varios procedimientos mecánicos para la eliminación de gopisol han sido investigados a nivel de laboratorio o planta piloto a escala, pero no han logrado tomar un status comercial. Los procedimientos investigados incluyen la separación de glándulas de pigmento intactas por flotación de las glándulas, la sedimentación diferencial en hexano comercial, la clasificación dinámica gaseosa o extrída con solventes y la harina de algodón sedimentada. También se ha informado que el tratamiento con cloro de las fracciones de harina de algodón, así obtenidas o de las hojuelas solvente-mojadas antes de la ~~eliminación del disolvente~~ molido o clasificación de aire, no únicamente redujo además de los contenidos de ---

gospol libre y total de la harina terminada, sino también produjo un producto color encendido brillante. Otro reporte menciona que una combinación de clasificación de aire y lavado con agua a pH de 4 - 6 o etanol acuoso proporciona concentrados proteícos de color fuerte de la harina de semilla de algodón (24). En este proceso, las pepitas secadas de la primera semilla de algodón en una amplia cámara suspendida en hexano y fraccionadas por centrifugación líquida dentro de una fracción rica en proteínas, encontrándose baja cantidad de gospol en la superficie y en la parte sedimentada conteniendo las glándulas de pigmento. La parte libre de glándulas flotante, después de la filtración y eliminación del solvente proporciona una harina en grado comestible conteniendo típicamente menos de 0.04 % de gospol libre y 0.012 % gospol total.

La Administración de Alimentos y Drogas de los Estados Unidos (FDA), tiene una concesión que aprueba para uso de esta harinolina, libre de gospol menos de 0.045 % como un aditivo alimenticio. El sedimento proporciona un alto contenido de gospol, harina burda que podría ser usada como alimento para rumiantes. Si las pepitas sin glándulas son usadas, el producto sedimentado contiene 50 a 54 % de proteína, puede también ser usado como un aditivo alimenticio o como un material de iniciación para la producción de proteínas de semilla de algodón aisladas. Otro reporte menciona que el tratamiento de harinolina con una suspensión de esporas de un hongo (una cepa de *Diplodia*) redujo la cantidad de gospol libre en 90 % e incrementó el gospol ligado en un nivel elevado (24).

## 2.2 Valor Nutritivo de la Harinolina :

Valor de proteína. Los valores para proteína (N x 6.25) en la pasta de algodón, fluctúan entre 40 y 53 %, siendo esta una buena fuente de triptofano; su contenido de metionina es moderado, pero es deficiente en lisina seguida por treonina, isoleucina y leucina, siendo el contenido del aminoácido lisina un

factor importante ya que es destruído debido al excesivo tratamiento térmico. La utilización de temperaturas elevadas durante la extracción del aceite, aumenta la combinación entre gosipol y lisina formando un complejo poco asimilable para monogástricos (7, 23, 35, 52, 59).

Un indicador de la calidad de la proteína y del grado de daño por calor durante el método de extracción a la misma, es la solubilidad del Nitrógeno en Na OH, informada en los resultados analíticos; pastas con solubilidad cercana al 80 % son de excelente calidad, mientras que las cifras inferiores a 50 % son generalmente indicadoras de mala calidad protéica (35).

Valor de Lípidos. En lo que se refiere a la presencia de lípidos, una pasta de buena calidad debe contener niveles de extracto etéreo inferiores a 5 - 6 %. Cuando el contenido de gasa es excesivo, el producto puede alterarse fácilmente mediante procesos oxidativos bajo condiciones favorables de temperatura y humedad. La rancidez oxidativa altera la integridad de los nutrientes especialmente lípidos y vitaminas liposolubles.

La presencia de ácidos grasos ciclopropenoides (A G C) en la pasta de algodón, limita su uso en la nutrición de las aves, causando decoloración y manchas en la clara de huevo. Estos ácidos grasos también producen una mayor acumulación de ácidos esteárico y palmítico en la grasa de depósito (7); aunque es posible demostrar efectos adversos en dichos compuestos sobre la velocidad de crecimiento de los pollos, se requieren niveles extremadamente altos, los cuales normalmente no podrían ser encontrados en la harinolina por sí misma. Sin embargo, la presencia de estos ácidos grasos en la harinolina puede resultar en desarrollo de coloración rosada de la albúmina del huevo (52).

Contenido de energía y fibra. La concentración energética de la harinolina en Kcal de energía metabolizable varía am --

pliamente, dependiendo del tipo de procesamiento y de los niveles de fibra, grasa, proteína y gosisol. Se ha demostrado que niveles altos de gosisol libre, reducen la energía metabolizable, debido posiblemente a la interferencia del gosisol con la digestión y la absorción de la proteína o carbohidratos de la pasta de algodón (7). Haciendo una comparación de la pasta de algodón (pre prensa solvente) con la pasta de soya, se obtuvieron valores de 2,235 Kcal de EM/Kg para la pasta de algodón y 2,770 Kcal para la pasta de soya (por solventes) (42).

Phelps (35), menciona que el incremento de grasa en la pasta de algodón o una baja en la cantidad de fibra en las harinolas, podría incrementar los valores de proteína y energía contenidos en la harinola ya que se encuentran relacionados inversamente, aunque el contenido de energía no depende del contenido de fibra (23, 52). Dado que existe una considerable variación en aceite, fibra, humedad y calidad de proteína de las harinolas, diferencias significativas en el contenido de energía se pueden esperar.

En el cuadro 4, se presenta la composición nutritiva de la harinola por los 3 principales procesos de extracción obtenido de un estudio que comprendió 1300 análisis individuales; en él se puede notar que el contenido de grasa es mayor en el material producido por prensa. El contenido de proteína y fibra depende de la cantidad de cascarilla que permanece con las almen dras (pepitas) antes del proceso y por la cantidad que se agrega al final del proceso.

El gosisol libre tiende a ser igual con el método de prensado y el de pre prensa solvente, observándose un ligero incremento en este último.

En cuanto a la solubilidad del Nitrógeno, es mayor la

Cuadro 4

COMPOSICIÓN ANALÍTICA DE LA HARINOLINA PRODUCIDA POR DIFERENTES PROCESOS (MEDIAS AJUSTADAS) (32)

		PREPrensa SOLVENTE	Presión por TORNILLOS	SOLVENTE DIRECTO
Materia seca	%	89.9	91.4	90.4
Cenizas	%	6.4	6.2	6.4
Fibra cruda	%	13.6	13.5	12.4
Extracto etéreo	%	0.58	3.72	1.51
Proteína cruda	%	41.4	41.0	41.4
Gosipol libre	%	0.05	0.04	0.30
Gosipol total	%	1.13	1.02	1.04
Solubilidad de N <sup>3</sup>	%	54.4	36.8	69.4
Calcio	%	0.15	0.16	0.15
Hierro	%	0.011	0.010	0.009
Magnesio	%	0.40	0.42	0.40
Potasio	%	1.22	1.20	1.16
Sodio	%	0.04	0.04	0.04
Fósforo	%	0.97	0.93	0.98
Cobre	mg/kg	17.82	16.72	16.28
Manganeso	mg/kg	20.02	21.56	20.68
Zinc	mg/kg	62.26	57.42	57.42
Cobalto	mg/kg	1.32	1.54	1.54
Biotina	mg/kg	.550	.528	.550
Colina	mg/kg	2932.6	2807.2	2706.0
Acido Fólico	mg/kg	26.62	2.728	2.794

Niacina	mg/kg	40.26	37.84	39.16
Acido pantoténico	mg/kg	7.04	7.70	9.90
Piridoxina	mg/kg	3.96	4.84	4.84
Riboflavina	mg/kg	3.96	4.18	4.40
Tiamina	mg/kg	3.30	9.68	7.70
Lisina	%	1.71 (4.06) <sup>4</sup>	1.59 (3.82)	1.76 (4.22)
Histidina	%	1.10 (2.61)	1.07 (2.58)	1.10 (2.64)
Arginina	%	4.59 (10.77)	4.33 (10.63)	4.66 (11.14)
Acido espártico	%	3.72 (8.76)	3.65 (8.80)	3.68 (8.86)
Treonina	%	1.32 (3.08)	1.30 (3.12)	1.34 (3.20)
Serina	%	1.74 (4.07)	1.68 (4.02)	1.78 (4.19)
Acido glutámico	%	8.30 (19.39)	8.55 (20.35)	8.08 (19.40)
Prolina	%	1.54 (3.62)	1.42 (3.42)	1.45 (3.50)
Glisina	%	1.70 (4.00)	1.69 (4.04)	1.69 (4.04)
Alanina	%	1.62 (3.83)	1.58 (3.80)	1.62 (3.88)
Valina	%	1.88 (4.34)	1.84 (4.42)	1.82 (4.37)
Metionina	%	0.52 (1.20)	0.55 (1.24)	0.51 (1.22)
Isoleucina	%	1.33 (3.10)	1.31 (3.14)	1.33 (3.16)
Leucina	%	2.43 (5.72)	2.23 (5.36)	2.41 (5.79)
Tirosina	%	1.13 (2.62)	1.09 (2.59)	1.14 (2.69)
Fenil alanina	%	2.22 (5.19)	2.20 (5.28)	2.23 (5.28)
Cistina	%	0.64 (1.52)	0.59 (1.41)	0.62 (1.46)
Triptofano	%	0.47 (1.07)	0.50 (1.18)	0.52 (1.21)

Energía metabolizable para aves

<sup>5</sup> Kcal/kg      2156                      2266                      2178

1 media ajustada restando la 1/2 de la desviación estandar. Excepto: cenizas, fibra y gosipol. En estos Casos la 1/2 de la desviación estandar se adicionó al valor medio.

2 Los valores para vitaminas y energía no son ajustados.

3 Solubilidad del N en 0.02 NaOH.

4 Como porcentaje de la proteína o g/16 g de Nitrógeno

5 Energía metabolizable corregida por retención de nitrógeno.

calidad para las harinas provenientes por solventes que para los otros. Se resume que gran parte de las pastas de algodón de baja calidad son producidas en Latinoamérica como resultado de un proceso inadecuado (6, 7).

La variabilidad en el contenido mineral es pequeña e in dependiente del proceso, no así el contenido de tiamina, el cual es menor para las muestras por prensa que para las muestras producidas por los otros procesos (7).

Sobre el contenido de aminoácidos esenciales, se indican pequeñas variaciones entre los diferentes procesos; igualmente muestra el contenido de lisina disponible, el cual es inferior para las harinolinas producidas por prensa que para las pre prensa solvente o solvente únicamente. El contenido de lisina disponible también es utilizado como índice de calidad nutritiva de la proteína ya que este aminoácido es el más limitante en la proteína de la pasta de algodón (6). La cantidad de lisina disponible depende del tratamiento térmico (a mayor calentamiento, hay una mayor combinación de lisina con gosipol) lo cual reduce la disponibilidad del aminoácido, lo que se refleja en una menor calidad de la proteína. Generalmente la pasta extraída por solvente es de mayor calidad protéica seguida por el método de pre prensa solvente y por el método de prensa (7).

### 2.3 Presencia del Gosipol en la Pasta de Algodón y su Importancia.

La presencia de "gosipol" y los pigmentos relacionados a este, son de gran importancia económica para la industria de alimentos balanceados para animales. Se puede considerar que la principal limitante de la harinolina para uso animal es el contenido de gosipol, pigmento que es tóxico para animales monogástricos (aves y cerdos), y por ello se ve limitado su libre uso (24, 33), siendo más utilizada esta pasta en el pasado como suplemen-

to protéico para ganado (rumiantes) (35).

Otra influencia de dicho pigmento se refleja en el aceite de semilla de algodón, el cual se considera de gran valor, ya que es utilizado en la fabricación de productos comestibles como aceite, margarina, manteca vegetal, etc. (33). El problema que presenta es su color obscuro, obligando a los procesadores a presentar aceites más puros y claros, aumentando con ello sus cos-tos de producción (48).

Por otra parte, la pasta de algodón se considera como buena fuente de proteína, comparándose en su calidad con la pasta de soya, siendo la primera de bajo costo, pero viéndose afectada su calidad protéica al tratar de eliminar los pigmentos de gossypol durante la cocción, es por ello que si las 2 pastas se encuentran al mismo precio en el mercado, se prefiere la segunda (24, 31).

#### 2.4 Pigmentos del Gossypol.

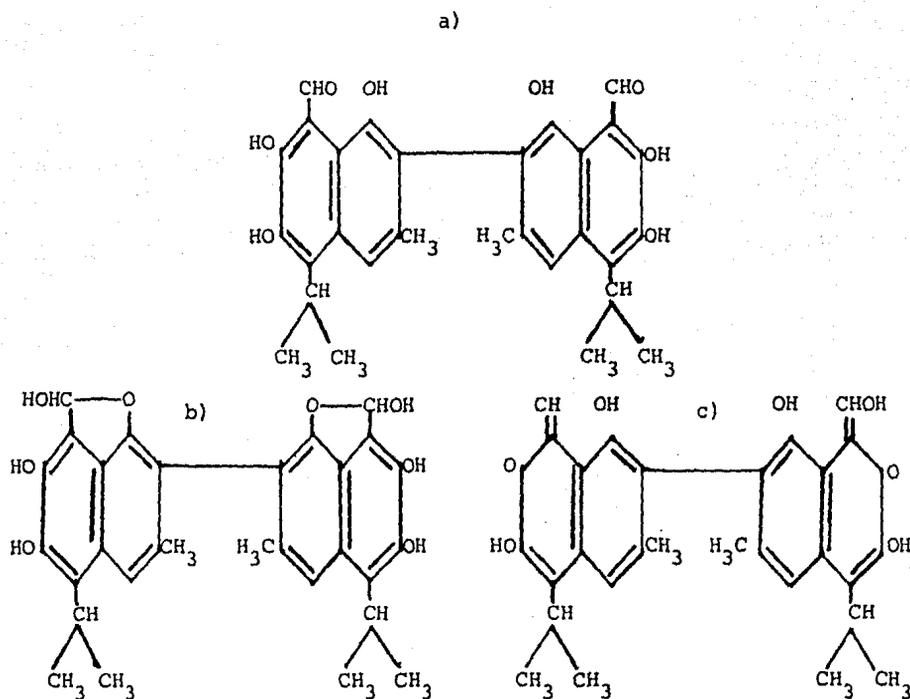
Se ha informado la presencia de por lo menos 15 pigmentos o derivados del gossypol en aceites o pastas de algodón, pero no todos han sido caracterizados o aislados, sino solo algunos en los que se incluyen: gossypol (amarillo), diaminogossypol (amarillo), 6 metoxigossypol (amarillo), 6, 6' dimetoxigossypol (amarillo), gossypurpurina (morado), gossyfulvina (naranja), gossycaerulina (azul) y gossyverdurina (verde) (24, 31, 43). A continuación se describirá brevemente cada uno de ellos:

Gossypol. Este pigmento es el más importante y se encuentra en mayores cantidades en la semilla de algodón cruda, que en la que ha sido sujeta a tratamiento con calor húmedo (cocinado) durante el procesamiento. Este pigmento predominante y que se encuentra naturalmente, fue aislado por Longmore en 1886 y caracterizado más completamente por Marchlewski en 1899, su fórmula

fue dada a conocer por Adams et al en 1960 y es la siguiente: (24) 1, 1', 6, 6', 7, 7' -hexahidroxi-5, 5' diisopropil-3, 3', dimetil 2, 2' binaftaleno- 8, 8' dicarboxaldehido. Dicha estructura en base a estudios clásicos de las reacciones, propiedades y productos de degradación, presenta 3 formas equilibradas; el tautómero hidroxialdehido a), el tautómero lactol b) y la forma cíclica carbonilo c), las cuales se presentan en el esquema 3 (24).

ESQUEMA 3

ESTRUCTURA QUIMICA DEL GOSIPOL Y FORMAS EQUILIBRADAS



El gossipol está presente en la semilla no procesada, como forma libre localizada en las glándulas de pigmento; una parte de gossipol se extrae con el aceite, otra parte es convertida a la forma ligada (continúa formación de varios complejos incluyendo el complejo lisina-gossipol) y una parte permanece como gossipol libre; esta última debe ser considerada cuando se utiliza harinolina para alimentación de las aves, aunque hay alguna eviden

cia de que una pequeña cantidad de gopipol ligado puede ser liberado en el tracto digestivo. Asimismo diferentes tipos de semilla de algodon pueden diferir marcadamente en su contenido de gopipol libre en la harina.

El gopipol es marcadamente reactivo y presenta propiedades de ácido fuerte, es capaz de actuar como un compuesto aldehídico (24). Su fórmula empírica es  $C_{30}H_{32}O_9$  (22), compuesto polifenólico, no entra en ninguna de las clases usuales de pigmentos de plantas, característico del género *Gossypium*.

El gopipol reacciona como un ácido dibásico fuerte para formar sales neutras cuando se disuelve en diluciones alcali acuosas (24). En soluciones de alcohol es extremadamente sensible a la oxidación, pero puede actuar también como antioxidante (31). Forma compuestos de color brillante cuando reacciona con iones metálicos. Los grupos fenólicos del gopipol reaccionan rápidamente para formar ésteres y éteres, los grupos aldehído reaccionan con aminas para formar bases Schiff y con ácidos orgánicos para formar compuestos termolábiles. La reacción con aminas aromáticas, así como anilina para formar dianilino gopipol significativo para análisis.

El peso molecular del gopipol es de 518.5 (24). Soluble en la mayoría de los solventes orgánicos de polaridad intermedia, (31), en la mayoría de solventes lípidos (36), insoluble en agua, hexano y éter petróleo de baja ebullición (punto de fusión 30 a 36°C). El gopipol es cristalino y la mayoría de sus soluciones son fotosensibles en solventes orgánicos. El gopipol cuyo punto de fusión es 184°C se obtiene arriba de la cristalización del éter, de punto de fusión 199°C de cloroformo, y de punto de fusión 214°C de ligroina. Estos amplios rangos de temperatura se deben al polimorfismo del gopipol. También se informa obtención de gopipol de punto de fusión 195°C de benceno, el análisis de gopipol mostró 0.5 mol de benceno por mol de gopipol, y se concluyó

que esto era un compuesto molecular. Las otras sustancias incluyen la presencia natural de pigmentos del gossypol presentes en cantidades más pequeñas que el gossypol y no han sido estudiadas tan extensamente (24).

Gossycerulina. En el primer informe publicado sobre los pigmentos de semilla de algodón Kulmanen 1981 notó la formación de un material color azul cuando el "soapstock" se acidificó y se destiló al vapor para recuperar ácidos grasos libres. La Gossycerulina es la sustancia azul encontrada en soapstock de aceite de algodón acidulado y pasta de algodón cocinada (33), aunque también ha sido detectada en harinolas y aceite de algodón crudo. Actúa como un indicador y entonces cambia de color cuando cambia el pH. Es azul bajo condiciones ácidas, pero cambia a verde y después a amarillo bajo condiciones alcalinas. Su fórmula es  $C_{30}H_{30}O_8$  y por consiguiente es isómero del gossypol, su punto de fusión es a  $169^{\circ}C$  pero puede ser destilado al vacío. Es soluble en alcohol dietil éter, cloroformo, ácido acético y anhídrido acético. Es relativamente insoluble en éter petróleo, benceno, tolueno y agua. Da reacciones las cuales indican que tiene un grupo aldehído adyacente a un grupo hidroxilo. Este pigmento puede ser aislado de extractos de "soapstock" de aceite de semilla de algodón acidulada particularmente de soapstock obtenido por prensa hidráulica. Puede ser purificado por recristalización de una mezcla de etanol y éter petróleo y preparado calentando gossypol disuelto en ácido sulfúrico (24).

Diaminogossypol. La presencia de diaminogossypol en la semilla de algodón que ha sido almacenada a altas temperaturas, fue notificada en 1949, su síntesis por reacción del gossypol con amoníaco líquido y asignada la fórmula  $C_{30}H_{32}O_6N_2$  para el producto amarillo sólido que fue fundido con descomposición a  $228-230^{\circ}C$ . Sin embargo, otros informes mencionan la síntesis de un sólido brillante amarillo con fusión a  $219-221^{\circ}C$ , también designado

como diaminogosipol, pero formulado como  $C_{30}H_{35}O_7N_2$  por reacción de amoníaco gaseoso con una solución tibia de gosipol en cloroformo. El producto fue indicado para reaccionar con anilina y con p-anisidina para formar dianilino gosipol y di-p-anisidinogosipol respectivamente (24).

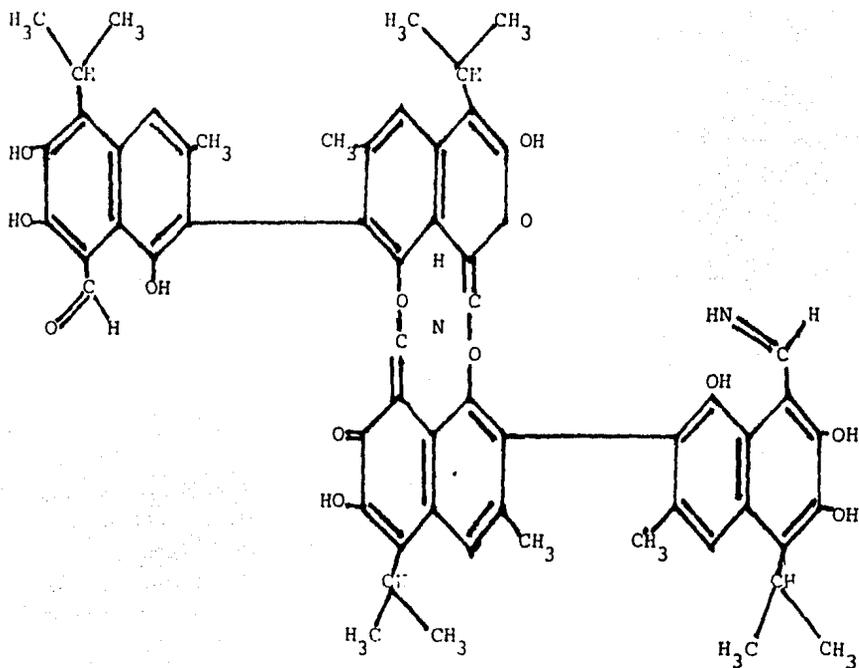
Gosipurpurina. Es otro de los pigmentos que se encuentran naturalmente conteniendo nitrógeno en pequeñas cantidades en la semilla de algodón. Se encuentra en mayor cantidad en la semilla de algodón cocida que cruda (33).

Este derivado del gosipol es de color morado, su punto de fusión es de  $200-204^{\circ}C$ , su peso molecular es de aproximadamente 1200 basado sobre determinaciones crioscópicas en solución de benceno. Algunos autores han determinado la fórmula  $C_{60}H_{64}N_2O_{14}$ , otros han determinado el peso molecular entre 427 y 608, proponiendo  $C_{30}H_{32}NO_7$  como su fórmula (24).

Se sintetizó gosipurpurina calentando gosipol completamente mezclado con varios aminoácidos como metionina, fenilalanina y leucina en una proporción molar de 3:1, reportando que las soluciones de gosipurpurina en disolventes hidrofóbicos como cloroformo ( $CH_2Cl_2$ ) tienen un color púrpura con absorción característica a 530 y 565 nm, pero las soluciones en alcoholes alifáticos son de color amarillo sin absorción característica en la región visible. Explicando la transición por interreacciones fotoquímicas de disolventes por oxidación reducción, inducidos por radiación luminosa visible, y la estructura mostrada en el esquema 4, fue designada como gosipurpurina (24).

Su estructura se muestra en el esquema 4 (24).

ESQUEMA 4  
ESTRUCTURA QUIMICA DE GOSIPURPURINA (24)



La gossipurpurina es soluble en dioxano, acetona, piridina, cloroformo y benceno. Es ligeramente soluble en éter petróleo, metanol y etanol e insoluble en agua; las soluciones de este compuesto son muy inestables al calor y a la luz siendo convertida de este modo a un producto amarillo que no es gossipol.

Gossipurpurina es hidrolizada por ácido a producir gossipol. Del mismo modo diaminogossipol reacciona con anilina y con p-anisidina para formar dianilino-gossipol y di-p-anisidino-gossipol respectivamente (24).

El contenido de gossipurpurina se incrementa durante el almacenamiento prolongado, la cantidad formada depende de la temperatura y período de almacenamiento (33).

El pigmento inestable de gossipol rojo existente en la se-

milla de algodón, mostró ser una mezcla de gosipol y gosipurpurina.

Gosifulvina. Este es un compuesto color naranja y es encontrada ocasionalmente en la semilla de algodón cruda, se forma durante la cocción de la semilla de algodón. Ha sido detectada en el aceite y pasta de algodón obtenida por prensa hidráulica y algunas muestras de aceite de semilla de algodón extraídas por solventes.

La gosifulvina cristalizada se funde por descomposición a 238-239°C. La hidrólisis ácida de gosifulvina produce gosipol en cantidades de 82-86% del peso de gosifulvina tratada. A diferencia del gosipol, esta no reacciona con la anilina, solución de Fehling, o reactivo aldehído Fucsina y es insoluble en álcali acuoso. Los valores de análisis están de acuerdo con la fórmula  $C_{35}H_{34}N_2O_8$  (24, 33). La gosifulvina en soluciones de cloroformo, exhibe un espectro de absorción visible en la región ultravioleta, idéntica con aquella de una solución de cloroformo de dianilino gosipol.

También puede ser separada de extracto etéreo de semilla de algodón después de la separación de gosipol, ácidos grasos y otros materiales de los extractos. Puede ser purificada por recristalización de muestras frías de cloroformo y dietil éter.

Gosiverdurina. Este pigmento verde inestable se ha aislado en forma parcialmente purificada de extractos de acetona de las glándulas de pigmento. Es soluble en cloroformo, metanol, etanol, acetona y dietil éter y es insoluble en éter petróleo, toma el color café a 210°C, pero no se fusionó cuando se calentó a temperaturas tan altas como 310°C. Los análisis de gosiverdurina mostraron la siguientes composición: C 62.92%; H 6.19%; N 1.90%; O 21.09 %; Cenizas 8.20 %. Se reportó una relación estructural entre gosiverdu

rina y gossipol; cuando se analizó gossiverdurina por los procedimientos usuales dando valores de 25% de gossipol libre aparente y 32.5% gossipol total aparente (24).

Algunos otros compuestos del gossipol conteniendo aminoácidos y azúcares fueron separados de las glándulas de pigmento de la semilla de algodón. Otros pigmentos relacionados con el gossipol han sido aislados de las raíces, tallos, hojas y los retoños de las flores y plantas de algodón.

Además de los pigmentos antes mencionados, se incluyen otros como el anhidro gossipol, dianhidro gossipol, hemigossipol y hemigossipolone, 6 metoxihemigossipol y desoximetoxi hemigossipol y otros ( 24, 33).

## 2.5 Glándulas Productoras del Pigmento.

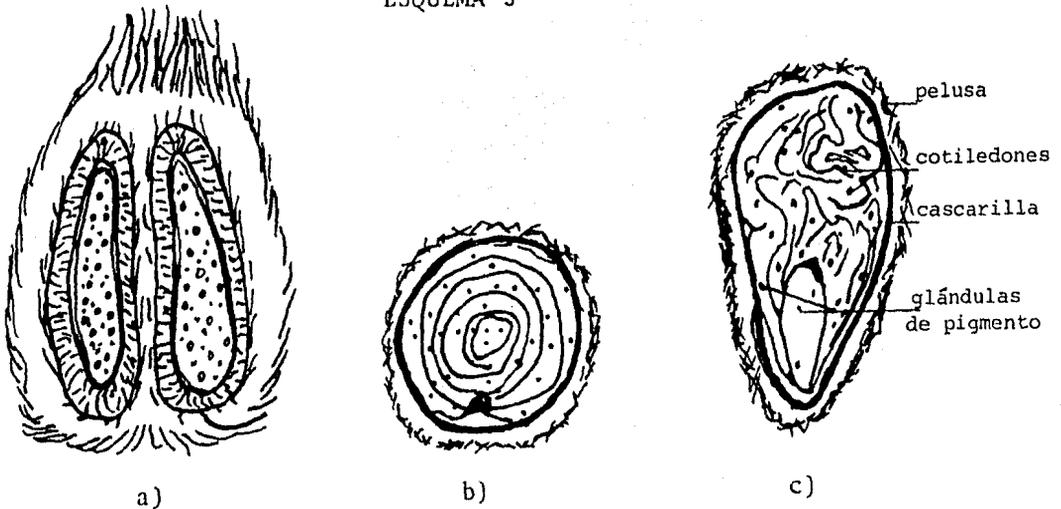
La semilla de algodón madura, es ovoide, puntiaguda, mide aproximadamente 8 a 12 mm de longitud y consta de 2 componentes principales, la exterior, cáscara o vaina (espermatodermo) y el embrión o pepita (centro). Las fibras largas (principales) y fibras cortas, hilas o hilachas surgen de la cáscara. Una membrana delgada separa el embrión de la cáscara. Las glándulas del pigmento son visibles y pequeñas manchitas oscuras esparcidas a través del tejido de la pepita. Cuando se observaron al microscopio, los colores de las glándulas variaron de amarillo brillante a naranja, rojo y morado. Todas las glándulas de pigmento en una sola pepita no son del mismo color y los colores pueden variar con el crecimiento y las condiciones del medio ambiente. Las glándulas de pigmento son cuerpos esféricos u ovoides, midiendo de 100 a 400 nm sobre el eje longitudinal y la medida promedio puede diferir de semilla a semilla ( 24, 31).

Las glándulas de pigmento comprenden del 2.4 a 4.8% del peso de la semilla. Los contenidos glandulares están contenidos

en discretos paquetes que miden a menos de 2 nm en diámetro y son sostenidos por una membrana propia semejante a una red que hace un trabajo de sostén con las glándulas. Las glándulas de este tipo se encuentran únicamente en las semillas de algodón y en pequeño número de plantas relacionadas al género Malvaceae (24).

El gopiol constituye entre un 39 al 50 % del peso de las glándulas de pigmento, (22, 24), gosipurpurina del 0.612 a 1.73 % y gosiverdurina cerca del 2 %. Según otro autor (31), el gopiol ocupa del 20.6 - 39.0 % y de los otros pigmentos 2 %. Las glándulas también contienen gopiol asociado a aminoácidos y residuos de azúcar. Azúcares libres y aminoácidos también se han encontrado en las glándulas.

ESQUEMA 5



En el esquema 5, se muestran a) semilla de algodón, b) sección transversal y c) sección longitudinal de la semilla de algodón Gossypium hirsutum (24).

Cada glándula de pigmento está rodeada por una pared sensible al agua, compuesta de gruesas placas curvas, conteniendo celulosa, pectina y derivados del ácido urónico. Estudios con microscopía electrónica indican que las glándulas están rodeadas por una capa de células aplanadas tangencialmente. La existencia de una pared altamente resistente de las glándulas de pigmento de la semilla de algodón puede explicar la anomalía de la estabilidad relativa de los pigmentos polifenólicos del gossypol altamente reactivos. Aún cuando los pigmentos están en proximidad a los otros componentes de la semilla, el comportamiento de la pared de las glándulas de pigmento durante el proceso comercial de la semilla de algodón influencia grandemente la distribución de pigmentos de gossypol en las harinolas finales y los aceites producidos. La pared de las glándulas de pigmento es resistente a la ruptura bajo presión, como aquella aplicada para laminar las pepitas de la semilla de algodón, durante el procesamiento o durante la agitación en solventes no polares. Algunos solventes orgánicos como el cloroformo o dietil éter extraen completamente los pigmentos de las glándulas de pigmento a un contacto prolongado. El contacto de las glándulas de pigmento con agua ocasiona una descarga de los contenidos. Sin embargo soluciones acuosas saturadas de sulfato de amonio y sulfatos de Al, Cd, Cu, Mg, Ni, Zn y cloruros de Ca, Fe y Mg no rompen rápidamente las glándulas.

## 2.6 Influencia Genética y del Medio Ambiente sobre el contenido de Gossypol.

Es característico el efecto de los factores genéticos sobre el contenido de pigmentos de gossypol en la semilla de algodón, siendo aproximadamente igual a los efectos de las condiciones medio ambientales durante el desarrollo de la semilla de una especie dada. También diferentes variedades de las mismas especies pueden diferir con respecto al contenido de gossypol, cuando la semilla crece bajo diferentes condiciones. Se ha informado que G. barbadense contiene más gossypol y gossypurpurina que las semillas de las

especies G. hirsutum. Dentro de las especies G. barbadense contiene más gosispol y menos gosispurpurina que la semilla egipcia (24).

En base a un estudio de 8 variedades de semillas desarrolladas en 13 diferentes lugares por 3 años sucesivos, se señala que los contenidos de gosispol y pepitas libres de humedad, varió de 0.39 a 1.70 % y que ambas variedades de semilla y medio ambiente influyeron en el contenido de pigmentos. También informaron que el contenido de pigmentos de gosispol está correlacionado negativamente con la temperatura del medio ambiente y positivamente con la precipitación pluvial. Otros autores han demostrado que los contenidos tanto de gosispol libre como del total en la semilla de algodón fueron afectados estadísticamente por las variables, cultivo, lugar de crecimiento, interacción cultivo por lugar.

En estudios sobre el contenido de aceite y otros constituyentes de la semilla de algodón se encontró una relación significativa entre el total de pigmentos del gosispol en la pasta de algodón y su contenido de lisina; por otra parte se ha mostrado una correlación negativa en los coeficientes de proteína, aceite y gosispol total en la semilla de algodón, lo cual sugiere que existe el potencial para mejorar específicamente los % de cada constituyente (24).

Los pigmentos de la semilla de algodón pueden sufrir cambios durante el almacenamiento de la semilla. Como la semilla desmondada debe ser almacenada antes del procesamiento, dichos cambios juegan un importante papel para determinar los tipos y clases de pigmentos de gosispol presentes en las harinolinas terminadas y aceites.

Estudios con 3 variedades de semillas G. hirsutum almacenados a 32.5 y 30°C revelaron que el contenido de gosispol disminuyó, pero el contenido de gosispurpurina se incrementó durante el almacenamiento. El incremento en gosispurpurina fue informado ser dependiente, sobre la temperatura y el período de almacenamiento de

la semilla. En 1968 se obtuvo evidencia directa de que el gosispol es convertido a gosispurpurina durante la maduración y el almacenamiento prolongado de la semilla de algodón. También se sabe que con la disminución de la calidad de la semilla, los contenidos de gosispurpurina son incrementados y aquellos de gosispol disminuídos. La presencia de diaminogosispol en semilla almacenada también ha sido informada (24).

## 2.7 Semilla de Algodón sin Glándulas

El desarrollo comercial de la semilla de algodón sin glándulas ha sido el objeto de muchos agricultores y la esperanza de muchos procesadores y usuarios de harinolas y aceites como medio para vencer las diversas dificultades resultantes de la presencia de gosispol. Como se mencionó anteriormente, existen factores ambientales y genéticos que influyen sobre el contenido de gosispol de la semilla de algodón, pero también se ha encontrado que todo el gosispol y la gosispurpurina de la semilla de algodón se encuentran en paquetes aislados o glándulas. Un desarrollo importante fue (24) el descubrimiento de una semilla de algodón sin glándulas. Aunque el primer uso propuesto para esta característica fue un marcador genético para medir la cantidad de cruzamiento natural en el algodón, el beneficio obvio, fue una semilla sin glándulas (y por lo tanto libre en gosispol), para la industria procesadora de semillas de algodón; más tarde esto permitió intentar a los agricultores la eliminación de las glándulas de pigmento de la semilla de algodón. La primera cepa derivada de una cruce entre Acala y Hopimoencopi y algodón silvestre de Arizona, fue una semilla sin glándulas, pero tuvo algunos problemas, produjo una corteza pequeña, propiedades inferiores de fibra, madurez tardía y otras características indeseables. El advenimiento de variedades comerciales sin glándulas se apoyan únicamente sobre el éxito del agricultor sino también sobre la integración dentro del sistema económico incluyendo el vendedor de semilla, granjero, moledor de semilla para aceite y finalmente el consumidor de algodón y productos de semilla de algodón (24,31).

Un extenso programa agrícola dió como resultado la combinación de semilla sin glándulas, experimentando con ella. En 1969, la característica de no poseer glándulas, había sido introducida a la mayor parte de las variedades, el primer plantío a gran escala comercial de semilla sin glándulas (Texas 1966), no resultó primariamente de esta variedad sin glándulas sino por su resistencia al hongo Fusarium. Sin embargo, se ha informado de variedades sin glándulas en Chad, India, Nigeria y otros países (24).

Otro acercamiento al desarrollo de la semilla de algodón sin glándulas es por vía mutación inducida por radiación, en 1965 (24) se anunció una nueva cepa de semilla de algodón sin glándulas (Bathim 110), obtenida por tratamiento de una variedad de algodón egipcio Giza con fósforo radiactivo, reportando que poseía las características deseables de una variedad glandulada. Aunque la semilla glandulada Giza, contenía 2 pigmentos del gosipol, Bathim 110 semilla de algodón y sus brotes, se dijo fueron hechas completamente libres de gosipol. El carácter aglandular fue dominante y hereditario simple. En contraste, aunque la semilla de algodón americana sin glándulas, es libre de gosipol, el carácter aglandular es recesivo y produce brotes, raíces, corteza y hojas las cuales contienen gosipol. Otros autores 1976 (24), señalaron que ellos nunca encontraron igualmente una traza de gosipol en cotiledones sanos sin glándulas, hojas, botones, peciolos, tallos jóvenes y consideró que la medida previa del gosipol podría estar en un error y concluyeron que la anilina y otros derivados de la amina, no deberían ser usados para la determinación de gosipol en las hojas, botones de las flores, tallos, cápsulas y otras partes foliares porque los carotenoides y otros aldehídos terpenoides además del gosipol pueden estar presentes formando uniones que son indistinguibles del complejo anilina gosipol por medidas usuales de absorción a 440 nm. Ellos recomiendan la reacción con phloroglucinol como más sensible y específico para medir colectivamente los aldehídos terpenoides de Gossipium.

En la última década fue aparente que el contenido de las glándulas de pigmento proporciona resistencia a ciertos insectos y puede disminuir la necesidad para los insecticidas.

Discutiendo el dilema de las glándulas del pigmento del algodón se sugirió que una solución al problema podría ser el cultivar algodón con las mínimas glándulas de pigmento requeridas para la población de insectos de localidades específicas. Sugirieron además que los algodones sin glándulas pueden ser útiles para el crecimiento en los llanos altos de Texas y ciertas áreas de California. Para otras áreas un programa ha sido iniciado para incrementar la resistencia del algodón a insectos, incrementando genéticamente el número de glándulas de pigmento en los botones de las flores de la planta de algodón; las plantas de algodón resultantes, fueron llamadas algodones "altamente glandulados" o con "alto gosipol", deberían proporcionar más resistencia a la mayoría de las plagas de los insectos del algodón, aún cuando las semilla sean sin glándulas.

Estudios de laboratorio indican que el aceite de la semilla sin glándulas tiene todas las cualidades deseables del aceite preparado comercialmente de semilla glandulada pero sin los problemas indeseables de color asociados con algunos aceites de la semilla glandulada (24). Harinas y otros productos protéicos preparados de semillas sin glándulas mostraron tener un alto valor nutritivo; estar libres esencialmente de gosipol y exhibir ciertas características funcionales deseables en formulaciones alimenticias.

La liberación del mejoramiento de variedades de algodón sin glándulas junto con un alto precio a los agricultores, deberían alentar la producción de mayor superficie de variedades sin glándulas, de manera que los productos de semillas sin glándulas sean disponibles dentro de los próximos años. Lotes comerciales de semilla de algodón sin glándulas, son ahora vendidos en los Estados Unidos de acuerdo a 3 clases: Clase A contiene no más de 400 ppm de gosipol total; Clase AA no más de 100 ppm y Clase AAA no más de 10ppm.

Aunque la semilla de algodón libre de gossypol puede ser un alcance final, hasta la fecha las cosechas de algodón comercial en el mercado mundial son derivadas de semillas con glándulas (29, 52).

## 2.8 Pigmentos del Gossypol en Productos Protéicos en Harinolas.

El contenido inicial de los pigmentos de gossypol de la semilla, las condiciones seleccionadas para la preparación de la semilla anterior a la extracción del aceite y las condiciones utilizadas para la extracción, todas determinan los pigmentos del gossypol en las harinolas producidas sin grasa. El efecto de dichas condiciones en la extracción sobre la pared de las glándulas de pigmento es una consideración importante, esto influye en el grado de ruptura de las glándulas, esta ruptura permite a los pigmentos difundirse y reaccionar con los constituyentes extraglandulares durante la extracción del aceite y juega un importante papel en la distribución final de los pigmentos del gossypol en las harinas y los aceites. Los efectos adicionales pueden ser notados sobre el almacenamiento de las harinas (24).

La pasta de algodón ha sido bien reconocida como una excelente fuente de proteína para los alimentos y se le ha dado mayor importancia a este aspecto. El color es un importante criterio en la utilización y aceptación de los alimentos como se mencionó anteriormente, y los pigmentos del gossypol juegan un papel en la utilización de los productos de la semilla de algodón por aportar nutrientes y funcionalidad hacia fórmulas alimenticias.

Con el procesamiento usual, se pretende en la semilla de algodón, unir los pigmentos del gossypol libre en la harinola, al mismo tiempo que se previene a los pigmentos ser liberados hacia el aceite. Esto resulta de el concepto que se desarrolló, que el gossypol libre es fisiológicamente activo y el gossypol ligado no lo es. Este concepto ha tenido gran significado práctico, aunque investigaciones recientes indican que una pequeña porción del gossypol ligado es biológicamente disponible para monogástricos, y una -----

pequeña proporción del gosipol libre no lo es. Una parte relativamente pequeña del gosipol total se pierde o destruye. En el procesamiento de la semilla de algodón por cualquier método, hidráulico o presión por tornillos, la mayoría de estas pérdidas ocurren durante la presión de las pastas. Aunque las harinolinias producidas por cualquiera de los métodos de procesamiento comúnmente usados, no son uniformes en composición, en general las harinas preparadas por extracción directa con solventes, son las más altas en gosipol libre (0.1 - 0.5 %). Las preparadas por presión de tornillos son las más bajas (0.02 %) y por extracción pre prensa solvente son intermedias (0.02-0.07%) (24). Los productos obtenidos de pigmentos del gosipol ligados en las harinolinias, no han sido aislados y caracterizados como entidades químicas definidas. Se ha demostrado que la lisina en la proteína de algodón puede ser destruida cuando la harina es calentada, y que el gosipol puro reacciona con los grupos libres amino-e de la lisina (15, 33), y que la disponibilidad biológica de la lisina está reducida de este modo. Sin embargo, la disminución en el contenido de gosipol en la harinolina cocinada no puede estar completamente relacionada por la disminución en los grupos amino-epsilon. El procesamiento de la harinolina (Incaparina), se informó como causante de una disminución en el gosipol libre sin cambios en el gosipol total o en la lisina disponible. Se sugirió que los constituyentes no proteínicos de las harinas pueden unirse con los pigmentos gosipol. Estudios de Damat y Hudson indican que la interacción proteína gosipol es iniciada a través de la reacción de los grupos formil del gosipol con los grupos amino-e de la lisina y arginina y que el gosipol puede reaccionar con los grupos thiol de la cisteína. Los productos resultantes de la reacción pueden sufrir cambios intramoleculares y finalmente forman productos insolubles e indigestibles (24).

La utilización de la pasta de algodón en la alimentación, depende de muchos factores y el color es uno de los más importantes. Los pigmentos de gosipol y no gosipol y sus productos de reacción secundaria, contribuyen formando cuerpos de color indeseable, durante la preparación, procesamiento y almacenamiento de los productos protéicos y tienen que ser controlados antes de que su em -

encontró valores variando de 0.013 a 10.78 % de pigmentos de gosipol. Kuhlmann (1861), en la primera investigación reportada sobre los pigmentos de semilla de algodón, describió el aislamiento de gosicaerulina, el derivado azul de gosipol de aceite de semilla de algodón, soapstock aci dificado, el cual había sido sujeto a destilación al va - por para la recuperación de ácidos grasos. Se ha informa - do que cuando los ácidos grasos son eliminados de soaps - tock crudo permanece ahí un color oscuro que retiene 36% de los productos de conversión de gosipol (24).

Por el uso en aumento de soapstock crudos y aci dulados en los alimentos, la detoxicación de los deriva - dos que contienen gosipol han sido investigados. Pack y Goldblatt (1955) encontraron que los pigmentos de gosipol de soapstock crudos pueden ser inactivados con tratamien - to a base de sales ferrosas o férricas. Un calentamiento simple de soapstock crudo en una vasija cerrado por 1 a 3 minutos a una temperatura de 210 a 220°C, fue suficiente para reducir el contenido de pigmentos de gosipol a menos de 0.02 %, pero los pigmentos de gosipol, en soapstocks acidulados pueden ser reducidos a menos de 0.1 % por sapo nificación con hidróxido de Sodio concentrado antes de la acidulación. Dichos soapstocks acidulados, se pueden em - plear con seguridad en dietas de pollos de engorda a cual quier nivel, y niveles superiores a 3% en raciones para gallinas de postura (24, 25, 54, 53).

### 3.0 UTILIZACION DE LA HARINOLINA EN LA ALIMENTACION DEL POLLO DE ENGORDA.

Para animales de estómago simple, el valor nutritivo de la harinolina es determinado primariamente por su valor protéico, y este a su vez depende de 4 factores que son: a) la cantidad de aminoácidos esenciales presentes, b) la disponibilidad de estos aminoácidos, c) el balance de estos aminoácidos y d) la presencia de sustancias tóxicas, las cuales interfieren en el valor alimenticio del efecto de la proteína, como el gosipol (pigmento amarillo) que es inofensivo para rumiantes, pero tóxico para cerdos, aves, ratas, y otros animales (38,43,58). La toxicidad y los efectos fisiológicos dañinos de la harinolina, están relacionados a la cantidad de gosipol libre presente en ella (10).

Si en el proceso de extracción del aceite, las semillas de algodón son sometidas al calor húmedo, presión por prensado y fractura, la mayoría del gosipol se tornará ligado hacia una forma no disponible para las aves. Desafortunadamente las técnicas de procesamiento que son más efectivas en reducir el gosipol presente, son también más dañinas para la calidad de la proteína (43)

En la harinolina comercial la toxicidad del gosipol se reduce por aplicación de calor y presión adecuadas. El gosipol liberado de las glándulas de pigmento se combina con la proteína durante el calentamiento para producir gosipol "ligado" que es el compuesto presente. La ligadura del gosipol con la proteína incluye un complejo con los grupos amino epsilon de la lisina aunque también reacciona con la glucosa (44,58).

Otros componentes de la pasta de algodón cocinada además del gosipol libre y ligado que afectan el valor nutricional del producto, se traducen en pobre velocidad de crecimiento de los pollos (10,33,44), son los ácidos grasos ciclopropanoides y cortezas presentes (46).

Todas las harinolinas comerciales en las raciones de aves son mejores para animales jóvenes en crecimiento cuando se suplementan con L-lisina, mientras que cuando los animales son más viejos hay menor necesidad de este aminoácido (44,58); siendo los aminoácidos más limitantes después de la lisina, metionina, treonina, isoleucina y leucina (43).

En trabajos de investigación realizados, se ha observado que cuando la harinolina es la única fuente de proteína, la cali-

dad de la harina es más crítica, ya que el efecto de las condiciones de procesamiento tiene una influencia profunda en su valor; cuando es mezclada con otras proteínas de alta calidad hay menor efecto de condiciones de procesamiento sobre la utilización de esta harina. Tomando en cuenta lo anterior y conociendo la concentración óptima de harinolina y gosipol que se debe incorporar a raciones prácticas de pollos y gallinas, se puede usar como suplemento protéico para llenar las necesidades de la industria avícola (43).

La intoxicación con gosipol es de carácter crónico, cuando se administran bajos niveles, el efecto aparece después de meses de alimentación y cuando se proporcionan altos niveles los efectos aparecen muy pronto (38).

El gosipol está presente en la semilla no procesada en la forma libre y localizado en las glándulas del pigmento, una parte del gosipol se extrae con el aceite y la otra se convierte a la forma ligada; formación continua de varios complejos (incluyendo el complejo lisina gosipol) y una parte permanece como gosipol libre. El contenido de gosipol libre (tóxico) debe ser considerado, cuando se utiliza la harinolina para la alimentación de aves, aunque hay evidencias de que una pequeña cantidad de gosipol ligado puede ser liberado en el tracto digestivo (43, 44, 52). De ahí la importancia de considerar todas las limitantes potenciales de la harinolina para optimizar su uso en dietas para pollos de engorda. Como es de esperarse, muchos de los informes que se han publicado son contradictorios y algunos incorrectos, siendo una buena fuente de información la publicada por Phelps (35).

### 3.1 Resultados de Experimentos sobre Toxicidad de Gosipol

En los primeros estudios, se observó en 1915 una correlación entre la cantidad de gosipol y el valor nutricional de la pasta de algodón después de la cocción; esto indicó que la toxicidad de la harina cruda fue debida a la presencia de gosipol libre,

la cual pudo ser detoxificada por el calor o eliminada por la extracción del aceite (33, 43).

Posteriormente Osborne y Mendel (1917), Withers y Carrut (1918), Gallup (1926), (1927) y Clark, en 1928 reconocieron que las harinolinas comerciales fueron generalmente menos tóxicas que la se milla original; esto se atribuyó a calor y la humedad usados durante el procesamiento, lo cual facilita la ruptura de las glándu las de pigmento, la liberación del gossipol libre y la subsecuente ligadura de este último con la proteína para formar gossipol ligado no tóxico. Consecuentemente hay un gran desperdicio en la calidad de la proteína como un resultado de la humedad y calor apli cado durante el procesamiento de la semilla para obtención del aceite (15, 43). Igualmente Gallup sugirió que otros componentes de la pasta de algodón cocinada además del gossipol ligado y li - bre, afectan el valor nutricional del producto. El mismo autor señala que las condiciones de procesamiento mediante las cuales se obtenía una harinolina con bajo contenido de gossipol libre era a través de una prensa hidráulica. En 1938 Ringrose y Morgan, informaron que la harinolina obtenida por prensa hidráulica podía reemplazar una mitad de la proteína suplementaria en raciones para pollos de iniciación.

En 1947 Groschke, et al. publicaron una nota de investi gación en la cual señalaron que el crecimiento de pollos alimenta dos con una ración conteniendo 0.79% de glándulas de pigmento de semilla de algodón, provocaba un retraso en el crecimiento (33).

En 1948, se comparó una pasta de algodón sin cocción y ex - traído el aceite con dietil éter, con una harinolina obtenida por prensa hidráulica y una harinolina libre de glándulas. La respues - ta de crecimiento obtenida no estuvo relacionada con el contenido de gossipol libre de los productos, y demostraron que el efecto negativo de las glándulas de pigmento sobre el crecimiento de los pollos fue mucho mayor que aquella de gossipol puro adicionado a la

dieta, y sugirieron que las glándulas aparte de los pigmentos del gosipol fueron responsables para este efecto dañino (43).

Boatner en ese mismo año, informa de pruebas en las cuales un nivel de 0.13% de gosipol fue adicionado a una ración conteniendo pasta de soya, lo que ocasionó retraso ligero del crecimiento de los pollos. En otra prueba con un nivel de 0.65% de las glándulas de pigmento, se encontró un mayor retraso en el crecimiento. Se encontró una pobre correlación entre el valor nutritivo de pastas de algodón y sus contenidos de gosipol y gosipurpurina (33).

Clark et al. (1948), encontraron que harinolinas obtenidas por solventes fueron ligeramente superiores a harinolinas obtenidas por prensa hidráulica cuando se alimentaron a pollos. Ellos también reportaron que partes iguales de harinolina por solventes y por presión hidráulica con pasta de soya dieron similares resultados a aquellos obtenidos con pasta de soya sola (43).

Krider, et al. en 1949, afirman que la composición de la harinolina y su valor alimenticio son afectadas primariamente por las condiciones usadas de procesamiento para eliminar el aceite individualmente (15).

Lillie y Bird en 1950, encontraron una relación directamente proporcional entre la ingestión de gosipol puro y glándulas de pigmento suministradas diariamente en cápsulas a niveles de igual toxicidad, como lo juzgado por los efectos sobre mortandad y crecimiento. Cuando el gosipol puro es adicionado a una dieta es muy inestable y desaparece en un corto tiempo. Se concluyó de sus estudios que la toxicidad de las glándulas de pigmento de semilla de algodón alimentando a pollos diariamente por cápsulas fue debido enteramente al contenido de gosipol de las glándulas (33).

Richardson y Blaylock en 1950, obtuvieron un mejor creci-

miento en pollos al suplementar una dieta a base de harinolina como la única fuente de proteína, con vitamina B12 y lisina sintética; en otro experimento encontraron que una mezcla de pasta de soya y harinolina no era satisfactoria para polluelos al compararla con una dieta totalmente de pasta de soya, en estas dietas, no fueron usadas proteínas de origen animal. Una dieta conteniendo maíz, azúcar y 60% de harinolina, suplementada con 0.5% de lisina, 0.2 % de metionina y 0.1 % de triptofano, produjo un rápido crecimiento. En otro experimento en el mismo año, fueron probadas 3 diferentes mezclas de pasta de soya y harinolina como fuente de proteína para pollitos, y encontraron que todas las mezclas eran muy bajas en lisina disponible para una velocidad máxima de crecimiento, estas mezclas además no contuvieron proteínas de origen animal (43).

En 1951, Milligan y Bird notaron un mejor crecimiento en pollos alimentados con harinolinas de alta solubilidad (N). El más pobre crecimiento fue notado con harinolinas que contenían niveles relativamente altos de gossipol libre. Estas investigaciones además indicaron que si la harinolina podía ser procesada propiamente, la cantidad de la proteína podría ser similar a la pasta de soya (43).

Lyman, et.al. en 1953, encontraron que la calidad de la proteína en la harinolina varía considerablemente como resultado de las condiciones variables de procesamiento. Asimismo, mostraron que muestras de harinolina de baja calidad en proteína, también fueron bajas en la disponibilidad de la lisina y que la calidad de la proteína en la harinolina está relacionada definitivamente a la disponibilidad de la lisina. Se llevó a cabo un estudio para determinar la toxicidad de diferentes niveles de gossipol para pollos, se administró en la forma de glándulas de pigmento y proveniente de una harinolina prepresada extraída con solvente, de bajo contenido de gossipol libre y relativamente alta calidad

de la proteína. La efectividad de la lisina en reducir la toxicidad del gossipol fue también investigado. El nivel de tolerancia de los pollos para gossipol libre fue determinado por niveles graduales de alimentación en la forma de glándulas de pigmento. Cuando el contenido de gossipol libre del total de la ración fue 0.06% o menor, no se encontraron efectos nocivos en la velocidad de crecimiento, mortalidad y eficiencia alimenticia. Esto indicó que la harinolina puede emplearse en cantidades tan altas como 40 % del total de la ración, si el contenido de gossipol libre de la harina no es mayor a 0.06%; la velocidad de crecimiento disminuyó progresivamente. Con cantidades mayores de gossipol, se elevó la mortalidad y la eficiencia alimenticia fue pobre. La inclusión de lisina sintética a las raciones mejoró el crecimiento a todos los niveles de gossipol, pero no cambió el nivel de tolerancia de gossipol medido por la velocidad de crecimiento, mortalidad o eficiencia alimenticia (10, 43).

Lewis y Sanfor (1953) mencionan que una harinolina obtenida de prensa de tornillos mantuvo un crecimiento satisfactorio cuando se incluyó al nivel de 15 % en dietas prácticas para pollo. Patrick en ese mismo año, obtuvo un mejor crecimiento de pollos alimentados con harinolina obtenida por solvente que con harinolina obtenida por prensa hidráulica. Cuando se añadió penicilina, vitamina B 12 y aureomicina a raciones de pollos conteniendo un tipo de harinolina comercial obtenido por solvente, se aumentó la velocidad de crecimiento mejorándose la pigmentación de las plumas, aunque estas no fueron bien pigmentadas como aquellas de los pollos que recibieron pasta de soya o caseína (43).

En 1954, Morgan y Willimon, compararon harinolinas obtenidas por prensa hidráulica, por prensa de tornillos y por solventes, en combinación con pasta de soya, contra una dieta totalmente compuesta de pasta de soya. Se observó que el crecimiento de los pollos fue casi tan bueno con la dieta que contenía harinolina obtenida por solvente como la dieta de pasta de soya. En todos

los casos, donde la harinolina fue usada para reemplazar la mitad de la proteína proveniente de la pasta de soya, las combinaciones produjeron crecimiento similar al de la dieta toda de pasta de soya (testigo); en todas estas dietas se emplearon cantidades limitadas de harina de pescado y suero seco (43).

Una harina libre de gopisol obtenida por solvente, fue usada en varios niveles para substituir a la pasta de soya en una dieta de tipo práctico para pollo de engorda en iniciación y pavos. Los resultados mostraron que la harinolina libre de gopisol puede ser usada para reemplazar hasta un 80% de la pasta de soya en dietas de iniciación de pollos de engorda y pavos, sin efectos adversos sobre el crecimiento o eficiencia alimenticia. La substitución completa de pasta de soya con harinolina, resultó en una reducción altamente significativa en la velocidad de crecimiento en pavos en iniciación.

Resultados similares se obtuvieron en pollos de engorda al menos en la mitad de las pruebas citadas en este estudio. Las combinaciones de harinolina y pasta de soya mejoraron el crecimiento de pollos y pavos en 4 y 5 % indicando de esta manera la posibilidad de una relación complementaria entre la harinolina y la pasta de soya, aunque el incremento fue únicamente ligero, el efecto fue consistente (43).

Altschul en 1954, mencionó que la harinolina es un alimento variable nutricionalmente, dependiendo de la composición de la pasta y las condiciones de procesamiento, las cuales resultan en producción de pastas de calidad que pueden servir para la alimentación de las aves en cantidades sin restricciones de la ración y mantienen un buen crecimiento (43).

Heywang y Bird (1955) llevaron a cabo una serie de experimentos para determinar la relación entre el nivel de gopisol libre

en la dieta y el crecimiento de pollos jóvenes. Pollos New Hampshire y White Leghorn fueron alimentados con dietas conteniendo pasta cruda descortezada, o por presión de tornillos, hidráulica, extraída por solventes o gosipol puro. Los niveles en la dieta de gosipol libre proporcionado por estas fuentes varió aproximadamente de 0.008 a 0.075 % en diferentes experimentos. Las dietas alimenticias se proporcionaron cuando los pollos tenían un día de edad y finalizaron a las 6 semanas de edad, excepto en aquellos cuyas dietas contuvieron gosipol puro, fueron alimentados por 5 semanas únicamente. Los datos obtenidos sobre crecimiento, consumo de la dieta y eficiencia en la utilización de la misma, indicaron que el contenido de gosipol libre de la dieta, no debe ser mayor de 0.016 % cuando se está alimentando a pollos White Leghorn, o mayor de 0.020 % cuando es para pollos New Hampshire. La velocidad de crecimiento no se incrementó cuando se alimentó con dietas conteniendo 0.008 % o menos gosipol libre en un experimento. Hubo depresión del crecimiento cuando la harinolina fue utilizada como alimento a altos niveles en un experimento, pero el gosipol pareció no ser responsable para esta depresión. La mortalidad fue baja en los experimentos aproximadamente de 1.5% (33, 43).

Couch, et. al., en 1955 realizaron un estudio para determinar la toxicidad de diferentes niveles de gosipol para pollos, cuando se proporcionó en forma de glándulas de pigmento y cuando el gosipol se suplementó a una dieta con harinolina extraída por pre prensa solvente de bajo contenido de gosipol libre (0.04 %) y gosipol total de 0.73 %, índice de calidad de la proteína 80. Los niveles de gosipol libre estudiados fueron de 0.02 a 0.25 %, como se indica en el cuadro 5; 1 % de monohidrocloreuro de D L-lisina, fue adicionado a dietas conteniendo 0.02, 0.06, 0.10, 0.15 y 0.20 % de gosipol libre. A través del período de 6 semanas hubo poca o ninguna diferencia en el crecimiento de los pollos alimentados con dietas conteniendo 0.02, 0.04 y 0.06 % de gosipol libre. Esto indica que los niveles de 0.02, 0.04 y 0.06%, no fueron tóxicos para pollos en crecimiento.

En los grupos alimentados con dietas conteniendo más de 0.06 % de gosipol libre, hubo una disminución progresiva en la velocidad de crecimiento de los pollos al incrementar la cantidad de gosipol libre en la dieta y muchos de los pollos murieron cerca de la 6ª semana del período de crecimiento. Como se indicó en el cuadro 5, la mortalidad alcanzó 45 % cuando la dieta contuvo 0.25 % de gosipol libre. El mismo cuadro, igualmente muestra que la cantidad de alimento requerido para producir un gramo de ganancia, se incrementó progresivamente al incrementar las cantidades de gosipol libre, cuando el contenido de gosipol libre de la dieta excedió de 0.06 %.

Como se muestra en el cuadro 5, a todos los niveles de gosipol probados, la adición de lisina mejoró la velocidad de crecimiento, mortalidad o eficiencia alimenticia. Recomendando, que si la harinolina fuera usada como único suplemento protéico para la preparación tipo práctico conteniendo 21 % de proteína, la cantidad de harinolina requerida, no debe exceder de 40 % de la dieta total, y un máximo de 0.06 % de gosipol libre.

Milligan y Bird en 1955, mencionan que variaciones tanto en la cocción como presión de la harinolina, pueden tener efectos sobre el valor nutricional de la harinolina para pollos en crecimiento. Aparentemente la máxima temperatura alcanzada durante la cocción, ejerce el efecto más importante entre las variables utilizadas en estos experimentos. Esta temperatura no debe exceder de 200°F (93.3°C) y hay indicaciones de que 160°F (71.11°C) puede ser el máximo satisfactorio. Tanto la lisina disponible, medida por las plumas blancas (aves de plumas rojas) y el % de nitrógeno soluble tendieron a disminuir al aumentar la temperatura de cocción. Dentro del rango de prueba, la duración de cocción no tuvo efectos moderados medibles sobre el valor alimenticio cuando la temperatura máxima fue de 200°F (93.3°C). Una harinolina conteniendo 0.01 % de gosipol libre, fue un alimento seguro al 39 % del total de la dieta de pollos jóvenes y como el único suplemento

Cuadro 5

EFFECTO DEL GOSIPOL LIBRE SOBRE EL CRECIMIENTO, MORTALIDAD Y EFICIENCIA ALIMENTICIA DE LOS POLLOS. (10)

GOSIPOL LIBRE EN LAS DIETAS %	GANANCIA A LAS 6 SEMANAS		EFICIENCIA * ALIMENTICIA		MORTALIDAD	
	SIN LISINA g	CON LISINA g	SIN LISINA g	CON LISINA g	SIN LISINA %	CON LISINA %
0.02	492.1	563.6	2.69	2.47	0	5
0.04	488.3	-	2.70	-	5	-
0.06	487.0	552.9	2.70	2.46	0	10
0.08	411.6	-	2.83	-	15	-
0.10	382.3	431.6	2.96	2.64	15	15
0.15	337.3	289.5	3.23	2.95	30	20
0.20	250.1	281.2	3.60	3.30	15	15
0.25	209.3	-	4.10	-	45	-

\* Gramos de alimento consumido por gramo de ganancia de peso corporal

de proteína. Cuando las harinolinas proporcionaron 0.02 % de gosipol, no fueron nocivas, pero a nivel de 0.108 % sí.

Observaron también que ejerciendo menor presión durante la obtención del aceite se incrementaba la solubilidad del nitrógeno (43).

Curtin en 1956, proporcionó las siguientes recomendaciones: Los 2 principales factores involucrados en el empleo de la harinolina en la alimentación de las aves, son gosipol y calidad de la proteína. Harinolinas con 0.04% de gosipol libre o menos, pueden ser alimento para pollos en crecimiento sin peligro de toxicidad. Algunos investigadores han indicado que niveles más altos pueden ser tolerados por los pollos. Aunque la tolerancia de pollos hacia gosipol, no fue bien definida, los datos disponibles indican que los pollos pueden tolerar al menos 0.016 % de gosipol libre en el total de la ración. La mayoría de harinolinas por "expeller", harinolina prepresada y algunos de los procesos especiales para extracción de harinolina, producen niveles lo suficientemente bajos en gosipol libre para ser incluidos en raciones de pollos en crecimientos, sin peligro de toxicidad. Harinolinas que contienen menos de 0.04 % de gosipol libre, pueden llamarse harinolinas degosipolizadas. Otras harinolinas normalmente no tienen garantía de contener gosipol libre (43).

Lo anterior indica que cualquiera que desee utilizar harinolina en raciones para pollos en crecimiento, debe comprar harinolina degosipolizada (baja en gosipol libre) o conocer el contenido de gosipol libre de la harinolina comprada para poder dosificarla adecuadamente.

El segundo factor que se debe conocer es la calidad de la proteína, midiendo en el laboratorio la solubilidad del nitrógeno, lo cual es un buen método químico para evaluar la calidad de la proteína. Este análisis muestra que las harinolinas obteni-

das directamente por solventes, tienen la más alta calidad de proteína, seguida en orden por las de prepresión, hidráulica y expeller. Las harinolinas que se producen por prensa hidráulica, normalmente son altas en el contenido de gosipol libre para ser usadas en grandes cantidades en raciones para aves. Los datos disponibles indican que una harinolina degosipolizada con un mínimo de 75 % de nitrógeno soluble, puede ser usado para substituir 50 % de la pasta de soya en raciones balanceadas para pollos en crecimiento (43).

En 1960 (29), se realizaron 2 experimentos en los cuales se trató de probar la tolerancia de los pollos a diferentes niveles de gosipol libre y a 3 diferentes niveles de proteína en una dieta tipo purificado. Se propuso la hipótesis de que incrementando el nivel de proteína en la dieta se contrarrestaba la toxicidad del gosipol libre y disminuía su efecto en el crecimiento. En el primer experimento se utilizaron pollos New Hampshire, y en el segundo White Plymouth Rock. Los experimentos duraron 4 semanas, administrándose en los 2 experimentos niveles de 17, 21 y 42 % de proteína.

En el primer experimento se empleó un grupo testigo (sin gosipol) y otros 4 grupos recibieron gosipol libre a niveles de 0.04 %, 0.06 %, 0.08 % y 0.10% respectivamente (Cuadro 6). En el segundo experimento el gosipol libre varió de 0.00 % (testigo), 0.02 %, 0.05 %, 0.06 %, 0.08 %, 0.10 %, 0.15 % (Cuadro 7). El gosipol libre fue proporcionado por la adición de glándulas de pigmento de semilla de algodón. De este estudio se concluyó que no hubo diferencia real entre los grupos testigo con los niveles de 21 y 42 % de proteína en los 2 experimentos. Pero sí se observó una mayor ganancia de peso al incrementar el % de proteína a 42 % con todos los niveles de gosipol libre, concluyéndose que el retardo de crecimiento de gosipol libre es contrarrestado, incrementando el nivel de proteína de la dieta. Quizá la proteína extra se combina con una más grande proporción de gosipol libre dietético reduciendo entonces el efecto depresivo

del crecimiento. Lo anterior está de acuerdo con la teoría de Clark (1928), que postuló una reacción entre el gosipol libre y la proteína. También al aumentar la proteína en la dieta, puede haber más lisina disponible para el animal. Diferencias marcadas en pesos fueron mostradas a altos niveles (0.10 y 0.15%) de gosipol libre.

Ascarelli y Gestetner (1962), Draper y Evans (1944), Heywang (1947), Sasser (1956), observaron que aunque la pasta de soya no es una fuente rica en lisina de tan alta calidad como la harina de pescado, la ganancia de los pollos aumenta cuando parte de la harinolina en la dieta se reemplaza por pasta de soya (55).

En 1963 Barnes y Woodman, Lyman, Chang y Couch (1953), indican que la solubilidad del nitrógeno en hidróxido de sodio es un indicador de la calidad de la proteína en la harinolina, más de 70 % de solubilidad se acepta como pasta de buena calidad (46).

En un estudio realizado por Jonhston y Watts, compararon harinolinas sin glándulas procesadas y con glándulas con y sin calor extraídas por hexano y hexano, acetona y agua. Todos los pollos fueron alimentados con una dieta tipo práctico con 21 % de proteína. La suplementación de lisina dió una respuesta en todas las dietas, pero la mayor fue con las harinolinas glanduladas, y menor con las harinas sin glándulas. La extracción con mezcla de solvente, pareció producir mayor calidad de la harina para los pollos. Concluyeron que las harinas sin glándulas preparadas por cualquier método de extracción son iguales a la harina de soya, en mantener el crecimiento de los pollos, y que la lisina es el aminoácido más limitante cuando la harinolina se emplea en grandes cantidades en las dietas para pollos (55).

Varios investigadores mencionan (35), que la solubilidad del nitrógeno en álcalis y la cantidad de lisina disponible, son

Cuadro 6

EFFECTO DE DIFERENTES NIVELES DE PROTEÍNA Y GOSIPOL LIBRE SOBRE EL PESO DE LOS POLLOS NEW HAMPSHIRE DE 4 SEMANAS DE EDAD.(29)

GRUPO Nº	% DE PROTEÍNA	% DE GOSIPOL LIBRE	PROMEDIO DE PESO A 4 SEM, g
1	17	0.00	332.2
2	17	0.04	298.8
3	17	0.06	248.3
4	17	0.08	157.3
5	17	0.10	170.3
6	21	0.00	386.9
7	21	0.04	317.6
8	21	0.06	252.1
9	21	0.08	203.2
10	21	0.10	162.5
11	42	0.00	351.3
12	42	0.04	381.5
13	42	0.06	294.2
14	42	0.08	298.7
15	42	0.10	232.2

D 0.05 = 52.1

Cuadro 7

EFFECTO DE DIFERENTES NIVELES DE PROTEÍNA Y GOSIPOL LIBRE SOBRE EL PESO DE POLLOS WHITE PLYMOUTH ROCK DE 4 SEMANAS DE EDAD. (29)

GRUPO Nº	% DE PROTEÍNA	% DE GOSIPOL LIBRE	PROMEDIO DE PESO A 4 SEM. g
1	17	0.00	306.7
2	17	0.02	282.2
3	17	0.04	280.8
4	17	0.06	286.9
5	17	0.08	249.4
6	17	0.10	256.5
7	17	0.15	185.1
8	21	0.00	361.9
9	21	0.02	341.6
10	21	0.04	309.1
11	21	0.06	327.8
12	21	0.08	304.9
13	21	0.10	287.3
14	21	0.15	224.3
15	42	0.00	394.1
16	42	0.02	401.8
17	42	0.04	383.7
18	42	0.06	387.6
19	42	0.08	342.2
20	42	0.10	309.5
21	42	0.15	308.1

D.05 = 63.3

los métodos más útiles para predecir la calidad de la proteína. En la harinolina, lisina es generalmente el aminoácido limitante, seguido de varios como metionina, treonina, isoleucina y leucina. La suplementación de las raciones conteniendo harinolina, con materiales ricos en lisina, como harina de pescado de alta calidad o lisina sintética, produce incrementos significativos en las ganancias de peso de los pollos. Conforme las aves tienen mayor edad, los requerimientos de lisina son menores y por lo tanto la necesidad para la suplementación de lisina se vuelve menor.

Estudios conducidos por Waldroup, et. al (55), sugieren que la harinolina sin glándulas (baja en gosipol) puede ser usada para reemplazar parcial o totalmente la pasta de soya en dietas de tipo práctico para pollo de engorda. Las dietas que contenían la combinación de las 2 fuentes, produjeron un mejor comportamiento de las aves; por otra parte los datos indicaron que la suplementación de lisina sintética es necesaria únicamente cuando más de 75% de la pasta de soya es reemplazada por la harinolina sin glándulas. La cantidad de lisina total requerida en las dietas para mantener un crecimiento óptimo y una mejor utilización del alimento pareció ser no mayor de 1.20 % cuadro 8. Suplementación de dietas conteniendo harinolina sin glándulas, ya sea con hierro, calcio o una combinación de ambos para vencer una posible toxicidad de gosipol, no tuvo efectos benéficos sobre el comportamiento. La razón fue que los niveles de gosipol de las dietas con harinolina sin glándulas no fueron lo suficientemente altos para causar un efecto negativo. Y se concluyó que la harinolina sin glándulas, de buena calidad, puede ser utilizada a niveles elevados en dietas de pollos de engorda que contengan niveles adecuados de nutrientes esenciales.

En 1969 (5), Bressani, et al. realizaron estudios en pollos y ratas encaminados a determinar el efecto del tratamiento del pH sobre el contenido de gosipol libre y total, grupos épsilon amino libres de la lisina y valor nutritivo de la harinolina.

Cuadro 8

COMPORTAMIENTO DE LOS POLLOS HASTA LAS 3 SEMANAS DE EDAD  
ALIMENTADOS CON DIETAS CONTENIENDO HARINOLINA , (55)

TRATAMIENTO	% TOTAL DE LISINA	GANANCIA DE PESO CORPORAL. g		CONVERSIÓN ALIMENTICIA	
		Día 28	Día 56	Día 28	Día 56
1. Dieta control de soya	1.32	447	1330	1.88	2.11
2. Reemplazo con 25% de harinolina	1.26	495	1367	1.88	1.97
3. Reemplazo con 50% de harinolina	1.20	471	1336	1.90	2.01
4. Reemplazo con 75% de harinolina	1.14	488	1363	1.98	2.03
5. Reemplazo con 100%de harinolina + 0.18 % de lisina adicional	1.26	479	1294	1.89	2.03

Cuadro 10

EXPERIMENTOS DE ALIMENTACIÓN CON HARINOLINA PENSADA HIDRÁULICAMENTE(15)

DATOS ANALÍTICOS

DATOS DE ALIMENTACIÓN

HARINA DE MUESTRA	T*	% DE GOSIPOL			LISI NA DIS-PONI BLE.	% DE NI-TRÓGENO SOLUBLE	INDICA DOR QUÍMI-CO.	PESO GA-NADO (g)	RELACIÓN DE		
		F**	B***						ALIMEN TO CON SUMIDO (g)	RELA- CIÓN DE EFI- CIEN- CIA DE LA PRO TEÍNA.	INDI- CADOR QUÍMI- CO.
CSM-N	1.38	0.15	1.23	2.90	38.50	27.90	249.0	1215	1.71	-	
CSM-HB	1.14	0.14	1.00	3.20	49.99	43.85	291.8	1408	1.73	1.02	
CSM-HN <sub>3</sub>	0.92	0.05	0.87	3.83	81.08	88.13	302.6	1308	1.93	1.13	
CSM	2.58	1.99	0.59	3.80	73.02	28.31	244.0	1358	1.50	-	

CSM-II, harinolina obtenida por prensa hidráulica; CSM-HB, harinolina extraída con butanona; CSM-HN<sub>3</sub>, harinolina tratada con etanolamina; CSM, harinolina extraída con hexano.

T\* TOTAL

F\*\* LIBRE

B\*\*\* LIGADO

de la lisina, está asociada a la toxicidad del gossipol. Se evaluó también el efecto de la suplementación con lisina. La adición de cualquiera de las 2 formas de hierro a las raciones, resultó en un mejoramiento significativo de las respuestas de crecimiento. Se obtuvo un efecto benéfico significativo en las ganancias de peso, cuando la pasta de algodón fue tratada precisamente con hierro (Cuadro 11). En general hubo efecto a la suplementación con lisina. El hierro en forma de solución fue más efectivo en contrarrestar el gossipol cuando las raciones fueron suplementadas con lisina. El hierro no mejoró la conversión alimenticia de los pollos en ausencia de lisina suplementaria, pero en presencia del aminoácido, las dietas tratadas con hierro fueron significativamente superiores.

En 1973, en estudios conducidos en Australia por Packham, se investigó en diferentes muestras de harinolina producida por presión de tornillos la disponibilidad de lisina por pruebas químicas. La proporción de lisina químicamente indisponible fue de 15 % para una harina suavemente tratada al calor y 38 % para una muestra sobrecalentada. Estos datos enfatizan la conveniencia de utilizar otros procesos como de prepresión con solventes o pastas de bajo contenido en gossipol para dietas de pollos de preferencia harinas por expeller o harinas de presión de tornillos (52).

En 1974 varios investigadores, mencionan que no es posible recomendar ampliamente en la alimentación a la pasta de algodón en la India, por las variaciones en el valor nutritivo, debido a la variedad de semilla usada, tipo de procesamiento y factores antinutricionales en ella (46).

Darwish en 1974 (13), investigó como contrarrestar el efecto tóxico de niveles altos de pasta de algodón, suplementando las raciones de los pollos en crecimiento con varios niveles de hierro, calcio y proteína. En pollos Fayomi de 9 semanas de edad,

Cuadro 11

CRECIMIENTO Y EFICIENCIA ALIMENTICIA DE LOS POLLOS  
A LA CUARTA SEMANA. (34)

RACIONES SIN LISINA	AUMENTO DE PESO (g)	EFICIENCIA*
1. Sin algodón (basal)	536	1,71
2. Con algodón sin Fe	419	1,99
3. Algodón + Fe polvo (H.T.)	470	1,90
4. Algodón + Fe sol. Deterg. (H.T.)	504	1,78
5. Algodón + Fe sol. Deterg. (H.T.)	412	1,96
6. Algodón + Fe polvo (A.T.)	454	1,88
7. Algodón + Fe sol. (A.T.)	436	2,18
8. Algodón + Fe sol. Deterg. (A.T.)	494	1,91

RACIONES CON LISINA

9. Sin algodón (basal)	547	1,69
10. Con algodón sin Fe	442	1,92
11. Algodón + Fe polvo (H.T.)	458	1,98
12. Algodón + Fe sol. (H.T.)	452	1,95
13. Algodón + Fe polvo (A.T.)	431	1,78
14. Algodón + Fe sol. (A.T.)	504	1,74
15. Algodón + Fe sol. (A.T.)	517	1,74
16. Algodón + Fe sol. Deterg. (A.T.)	517	1,79

H.T. Harina de algodón tratada; A.T. alimento tratado.

\* Kg. alimento consumido/kg. aumento de peso.

alimentó 25 % de pasta de algodón (descortezada), suplementada con diferentes niveles de hierro, calcio y proteína. La adición separada de calcio y hierro en la ración conteniendo 25 % de harinolina, incrementó el peso corporal final; sin embargo el hierro fue mejor que el calcio. El marcado incremento en el crecimiento de los pollos alimentados con altos niveles de proteína fue consecuentemente acompañado por una mejoría en la conversión alimenticia. Estos resultados indicaron que un alto nivel de proteína de otras fuentes, compensó el daño a la proteína ocurrido durante el procesamiento de la extracción del aceite debido al calor y reacciones químicas. Es evidente de estos resultados que el hierro fue un aditivo muy importante en la detoxificación del gopiol que los otros 2 aditivos.

De los datos previos se puede concluir que la adición separada de hierro, calcio y proteína a raciones de pollos en crecimiento incrementó el peso corporal final y mejoró la conversión alimenticia, por lo cual el hierro fue mejor que la proteína y calcio. Combinaciones de los 3 niveles altos de hierro, proteína y calcio, tuvieron un efecto sinérgico en contrarrestar el efecto del gopiol. Mejores resultados fueron obtenidos cuando dichos aditivos estuvieron en combinación que cuando se adicionaron a las raciones separadamente.

En 1975, Almquist y Halloran, determinaron la disponibilidad biológica de la lisina de harinolina de proveedores de la costa oeste de los Estados Unidos. La muestra contuvo 44 % de proteína y 1.8 % de lisina total por un análisis convencional de aminoácidos. Los resultados de la prueba biológica indicaron que la harinolina tenía un contenido efectivo de lisina de 1.6 % y disponibilidad de aproximadamente 88 % (52).

Sharma en 1977 menciona que el perfil de aminoácidos esenciales de la proteína de la pasta de algodón es similar al de muchas proteínas vegetales; y que la proteína de la pasta de algodón

contiene algo más de lisina y metionina que la proteína de cacahuate, aunque su disponibilidad puede ser menor en vista de la digestibilidad de la proteína (46).

De nuevo, Sharma, et al. en la India (46) en 1978, realizaron varios experimentos para evaluar el valor alimenticio de pastas de algodón, en dietas para iniciación de pollitas e iniciación y finalización para pollos de engorda. Los resultados mostraron que una harinolina con corteza contenía en promedio 22 % de proteína cruda, 0.06 % gosispol libre y 0.33 % gosispol ligado. Los valores correspondientes para harinolina sin corteza fueron 38, 0.04 y 0.63 % respectivamente. Los valores promedio de energía metabolizable para harinolinas con corteza, sin corteza, y desgrasa da sin corteza fueron de 1897, 2813, 2251 Kcal/kg respectivamente, aunque la harinolina con corteza no tuvo efecto sobre la velocidad de crecimiento de pollitas y pollos de engorda, cuando se utilizaron al 15 % de la dieta, la conversión alimenticia fue afectada adversamente.

La alimentación de la pasta sin corteza a pollos de engorda en iniciación y finalización en un 30 % de la dieta, en sustitución de pasta de cacahuate, no tuvo efecto sobre la velocidad de crecimiento y la eficiencia en la utilización de la proteína, pero la conversión alimenticia fue afectada. Los pollos de cualquier línea fueron capaces de tolerar 0.02 % de gosispol libre en la dieta, derivada de harinolina con corteza o sin corteza, sin efecto adverso sobre el crecimiento de los órganos internos.

Waldroup en 1981 (52), recomienda para pollos de engorda niveles de gosispol libre hasta de 100 ppm como máximo. Mediante la suplementación de hierro, la cantidad máxima permisible de gosispol libre en la dieta puede ser incrementada. En alimentos para pollos de engorda, niveles de 400 ppm de gosispol libre en la dieta, pueden ser factibles de utilización con la suplementación de hierro. Se debe tomar en cuenta que el principal aminoácido deficiente en la harinolina es la lisina; no únicamente es la canti -

dad total de éste aminoácido (aproximadamente 4.09 % de la proteína de la dieta, en comparación con el de 6.31 % para la pasta de soya), éste aminoácido también está sujeto a la formación de complejos indigestibles con gosisol o carbohidratos durante el procesamiento. Observándose de nuevo evidencia de la relación del tipo de procesamiento utilizado con solubilidad de la proteína y biodisponibilidad de la lisina. Harinolas prepresadas con solventes y harinas bajas en gosisol con solvente directo son generalmente superiores a harinolas procesadas con expulsores que son sujetas a gran cantidad de calor durante el procesamiento.

### 3.2 Hallazgos Patológicos.

En monogástricos, la muerte producida por los efectos del gosisol se atribuye a la reducción en la capacidad de acarreo de  $O_2$  de la Hemoglobina y sus efectos hemolíticos sobre los eritrocitos (24, 39) inhibiendo la liberación de  $O_2$  (40) de la oxihemoglobina y por lisis de los eritrocitos (38). Revisando los hallazgos patológicos en diferentes animales que recibieron gosisol, parece ser que la anoxia puede ser un mecanismo significativo de la muerte.

El mayor peligro asociado con la presencia de gosisol en el alimento para aves es la formación de un complejo hierro-gosisol, lo cual puede ocurrir en el tracto digestivo, la corriente sanguínea o la yema de huevo (52). En 1955 Jonassen y Demint establecieron que el gosisol libre reacciona con hierro en estado ferroso en una relación molar de 1:1 y concluyeron que un complejo de la fórmula  $Fe_2 + \text{gosisolato}$  era formado (24). Estableciendo posteriormente que cada molécula de gosisol libre reacciona con un ión ferroso (42) reconociéndose el significado de la existencia de esta interrelación gosisol mineral (13), se disminuyó notablemente la toxicidad para pollos en crecimiento (43, 44), disminuyendo la absorción de gosisol en el tracto intestinal.

En el informe de Altschul 1966, se menciona que hay problemas en las relaciones entre la cantidad exacta de hierro y la cantidad de gopiol. Jonassen explica que el hierro de la dieta protege a los pollos de los efectos tóxicos de la harinolina, debido al hecho de que la mitad del gopiol interactuó con un ión ferroso. El complejo consistió de un ión, hierro (Fe II) y un ión gopiol para dar la fórmula general Fe II gopiolato. Opinando otros autores que el gopiol y el hierro formaron un complejo insoluble previniendo que el gopiol sea absorbido por el tracto gastrointestinal (13) y por lo tanto se desarrolla una anemia por deficiencia de hierro (34). Según esto, la adición de calcio incrementa la efectividad de la formación del complejo gopiol hierro, resultando en una protección total contra la toxicidad del gopiol, mencionando la formación de un compuesto gopiol hierro insoluble. Rands menciona, en 1966 que el complejo calcio-gopiol no es muy estable en el equilibrio dinámico existente en el tracto digestivo y que apreciables cantidades de gopiol no ligado son absorbidas (13).

La unión entre gopiol y las proteínas sin duda también explica el alto contenido de gopiol residual y efecto acumulativo de gopiol en el cuerpo (31). El gopiol libre se considera que es la mayor forma biológicamente activa, pero el gopiol ligado puede ser puesto en libertad en el tracto digestivo (44).

El gopiol en el cuerpo se ha encontrado especialmente a nivel alto en la capa epitelial del estómago y también se ha encontrado en riñón, bazo, sangre y músculos (31).

Los efectos de la adición de acetato de gopiol en los sistemas enzimáticos del hígado de pollos, fueron estudiados dando 0.25 mg de acetato de gopiol, éste inhibió completamente la deshidrogenasa succínica y la actividad de la citocromo oxidasa, mientras la actividad de la respiración endógena y las actividades de la oxidasa xantina fueron reducidas a menos de la mitad de

la actividad original. A nivel de 0.5 a 0.75 mg el acetato de gosipol inhibió completamente todas las enzimas mencionadas (24, 28, 33).

Pollos de un día de edad fueron alojados en baterías y alimentados con cápsulas de acetato de gosipol diariamente por un período de una semana, desarrollando anemia hemolítica acompañada de un pigmento tipo ceroide en el hígado, bazo y duodeno de los pollos (24, 33).

También se ha considerado que el gosipol ejerce sus efectos tóxicos en animales y aves por separación de la unión respiratoria de la fosforilación. Lyman ha informado la recuperación de gosipol radioactivo (o metabolitos del gosipol) en las heces y tejidos de pollos alimentados con gosipol marcado en el grupo formil aldehído con  $C^{14}$ . Un promedio de 89.3 % de la actividad  $C^{14}$ , se encontró en las heces y únicamente 8.9 % en los tejidos. De esto aproximadamente la mitad (4.4 %), se encontró en el hígado, 3.1 % en el músculo, 1.6 % en la sangre y menores cantidades en los riñones, pulmón, corazón, cerebro y bazo (24).

### 3.3 Lesiones Microscópicas.

En 1957, Ferguson et al. realizaron estudios histopatológicos de pollos a los que se les dió gosipol en cápsulas y por inyección intramuscular. Se encontró un pigmento café amarillento en los tejidos, rápidamente a la inyección del gosipol, el pigmento se encontró en el hígado y bazo. Cuando el gosipol fue retirado de la dieta el pigmento desapareció del tejido gradualmente (33).

Rigdon, et al. en 1958, observaron un pigmento semejante a ceroide en los intestinos, hígado y bazo de pollos alimentados con harinolina, la dieta contenía 0.04% de gosipol (39, 40). La cantidad de Hemoglobina y el número de eritrocitos en los pollos disminuyó progresivamente con el incremento en la cantidad de gosipol en la dieta. El peso de estas aves disminuyó al aumen

tar la concentración de gosisol. Mostrándose en este estudio que una caída progresiva en la cuenta de células rojas periféricas y una hiperplasia eritroblástica de la médula osea, constante con un fenómeno hemolítico. En pollos normales conforme se incrementó su edad se tuvo una disminución progresiva en el número de células eritroides que los testigo durante las primeras 2 semanas. El número de células rojas precursoras sobre el 14 avo. día se incrementó en pollos tratados con gosisol.

La variación en el % de células en la médula osea sugiere que las series eritroblásticas fueron estimuladas por algún mecanismo hemolítico. No se observaron cambios macroscópicos en las vísceras de 10 pollos del grupo experimental, sin embargo lesiones microscópicas estuvieron presentes en el intestino, bazo e hígado. Algunas de las células epiteliales cubrieron las vellosidades en el duodeno, ambas estuvieron ausentes o mostraron cambios agudos degenerativos en pocos de los pollos alimentados con gosisol, los resultados de estos cambios en los intestinos resultaron del efecto del gosisol. En las tinciones con H.E. de intestino delgado, masas de pigmento café amarillento estuvieron presentes en el estroma de las vellosidades en todos los pollos que recibieron gosisol; no se observó pigmento en las vellosidades del lote testigo. El pigmento pareció estar libre dentro del lumen de los pequeños canales en las vellosidades duodenales, parecido a vasos linfáticos o capilares. Hubo un incremento aparente en el número de células epiteliales secretoras de mucina. Un pigmento café amarillento semejante a las vellosidades duodenales estuvo presente en los sinusoides del bazo. El tamaño de las masas individuales y la cantidad de pigmento en el bazo se incrementó en el período de tiempo en que los pollos recibieron gosisol. Una mayoría de este pigmento pareció ser extracelular dentro de los sinusoides (cavidades esplénicas), muchas vacuolas estuvieron presentes en las secciones teñidas con H.E. de hígado, variando en tamaño y a través del lóbulo hepático. Estos espacios espumosos fueron rodeados por células hepáticas bien preservadas. Estos espacios parecieron estar generalmente dentro de los sinu-

sinusoides hepáticos aunque algunos aparecían dentro de los cordones hepáticos. Pocas y pequeñas masas de pigmento café amarillento estuvieron presentes en los espacios espumosos en secciones de hígado teñidos con H.E. Masas similares de pigmento también estuvieron presentes en las células de Kupffer.

Rigdon et.al, en 1959, alimentaron a pollos de un día de edad con glándulas de pigmento de gosipol, posteriormente se sacrificaron y observaron secciones histológicas teñidas con H.E.. Sobre el día 19, 24 horas después de descontinuado el alimento, se encontraron concentraciones del pigmento en el hígado, igualmente en el bazo. La distribución del pigmento en el hígado presentó glóbulos de grasa variando en tamaño de 1 a 6  $\mu$ , distribuidas ampliamente a través del hígado, pero se concentraron alrededor de los vasos sanguíneos en las áreas portales. Hubo una ausencia de material lípido teñido alrededor de las venas centrales. Glóbulos de material teñido de aceite rojo O estuvieron presentes en el lumen de algunos de los vasos sanguíneos hepáticos. Algunos de los glóbulos parecían atacar a las células endoteliales de los vasos sanguíneos, otros parecían estar libres ya sea dentro de los sinusoides del hígado o en las células de Kupffer. Los glóbulos estaban presentes en las células hepáticas. Algunos de los conductos biliares dentro del hígado tenían una concentración de un material de aceite rojo O teñido cerca de su periferia. Unas células epiteliales revistiendo el ducto biliar tenían un glóbulo de material teñido rojo O ya sea dentro o sobre la superficie de la célula. El pigmento en el hígado de los pollos alimentados con gosipol, generalmente no tiñe positivamente para hemosiderina, sin embargo pocos gránulos pequeños de material azul teñidos estuvieron presentes en los sinusoides y en las células de Kupffer asociadas con los gránulos de pigmento café amarillento. En un segundo experimento, se estudió el efecto de gosipol inyectado I.V. en una solución de 1.0 % de gosipol dentro de la vena de la pierna. Los estudios histológicos de hígado y bazo y teñidos con H.E., indicaron muy poco pigmento en

hígado y bazo. En el tercer experimento el gosipol fue inyectado localmente dentro del músculo pectoral, hígado y bazo y teñidos con H.E., PAS, Pearl y ácido ósmico para grasa. Se observó extensa necrosis en el músculo pectoral acompañado de un proceso inflamatorio, después de 48 horas de la inyección, se encontraron macrófagos ocupados con un pigmento café amarillento, inflamación aguda con una mínima cantidad de necrosis y muchos leucocitos polimorfonucleares se presentaron donde el aceite de algodón fue inyectado. Los cambios degenerativos agudos ocurrieron en el músculo pectoral después de la inyección local del gosipol, el músculo en el sitio de la inyección mostró necrosis coagulativa. Las fibras musculares menos dañadas tenían área focales de necrosis y vacuolización en el sarcolema (33, 39, 40).

Los estudios histológicos del hígado de pollos alimentados con gosipol sugieren que el gosipol alcanza el hígado a través de la sangre, pasa de ahí a los sinusoides hepáticos y es fagocitado por las células de Kupffer, el pigmento entra a las células hepáticas y desaparece finalmente de ellas. Algo de pigmento deja aparentemente el hígado por vía del sistema biliar. Otros autores también señalan depósito de pigmentos ceroides siguiendo a la alimentación o inyección de gosipol en hígado ( 24, 35 ), así como vacuolización, espacios espumosos, y necrosis intralobular en el mismo órgano (19,38,43).

### 3.4 Lesiones Macroscópicas.

Entre los daños encontrados debido a los elevados niveles de gosipol purificado o glándulas conteniendo pigmento de gosipol en aves de engorda, se encuentran los siguientes signos: Pérdida del apetito, crecimiento lento, disminución en la eficiencia y/o utilización alimenticia. La depresión de la ganancia de peso ocurre principalmente en pollos jóvenes, ya que estos son los más susceptibles. En una intoxicación de tipo crónico, aunque datos adicionales indican también que bajos niveles de gosipol estimulan las ganancias de peso, pudiendo explicarse en base

a diferencia en los componentes de la ración, así como a los niveles de gosipol ingerido (20, 24, 38, 43, 44, 19, 35).

Se ha considerado al gosipol como un tóxico de tipo crónico ya que normalmente es aportado en la dieta, pero también se han observado algunos signos de tipo agudo como son: (38) Indiferencia, gastroenteritis, disnea, convulsiones y muerte.

Algunos autores contradicen el punto que habla acerca de incremento en la mortalidad, pero la mayoría lo afirman. Dichos autores mencionan que altos niveles de gosipol en la ración no fueron acompañados por baja eficiencia o utilización alimenticia (35, 44). Otros indican que bajos niveles de gosipol estimularon la ingestión alimenticia (35) y aún otros indican que bajos niveles de gosipol mejoran la eficiencia alimenticia (24). Es interesante mencionar que el gosipol proporcionado por las glándulas de pigmento pareció ser de similar toxicidad, aunque posteriormente se señaló que eran más tóxicas las glándulas de pigmento que el gosipol purificado (35). Se ha observado también que las aves afectadas continúan comiendo casi hasta su muerte (43, 44).

Entre otros signos se encuentran: Disnea apnéica, respiración ruidosa, debilidad de las piernas, edema, emaciación (19, 33, 35, 38, 43).

En sangre y huesos: Anemia de tipo hemolítico, reducción en la hemoglobina, eritropenia, reducción de células en la médula osea, incremento en la globulina sanguínea y albúmina disminuída (20, 24, 33, 35, 43).

En hígado: Hepatitis, decoloración del hígado, edema, congestión, degeneración del hígado (19, 38, 43).

En vesícula biliar: Agrandamiento (24, 33, 35, 43).

Riñón: Nefritis (38)

Bazo: Congestión (38)

Nódulos linfáticos : Congestión (38)

Corazón: Ascitis, hidropericardio (fluido seroso )  
(33, 38, 43).

Edema local cuando el gopipol fue inyectado subcutáneamente (40)

Pulmones: Edema y neumonía, congestión (38).

Páncreas: Agrandamiento (24)

Peritoneo: Fluido seroso (33, 44)

Intestino: Enteritis (19)

### 3.5 Métodos para Detoxificar la Harinolina y Mejorar su Calidad en Dietas para Pollos.

En 1915, Withers y Carrut, observaron una correlación entre la disminución en la cantidad de gopipol y una mejoría en el valor nutricional de la semilla de algodón después de la cocción. Además encontraron que la extracción del aceite de semilla de algodón con dietil éter, repercutía en una harinolina no tóxica para ratas y cuyes ; esto indicó que la toxicidad de -- harinolina cruda era debida a la presencia de gopipol libre pudiendo ser detoxificada por calor o eliminado por extracción con dietil éter (10).

En 1947 Brant y Carver, encontraron que las combinaciones de harinolina, harina de pescado y pasta de soya produjeron resultados comparables a las combinaciones de pasta de soya-harina de pescado (55).

En 1947-50, se probaron diversos agentes químicos para disminuir la toxicidad de las glándulas de pigmento de la semilla de algodón, algunas de estas fueron: alcohol, hidróxido de sodio, hipoclorito de sodio, fosfato disódico, fosfato trisódico, cloru-



y gosipol libre adicionado en forma de glándulas de pigmento, los niveles variaron de 0.02 % a 0.15 %. Fueron empleados pollos New Hampshire y White Plymouth Rock , la duración de cada experimento fue de 4 semanas. Mostrando los pollos a todos los niveles de gosipol libre un crecimiento superior a un nivel de proteína de 42%. Marcadas diferencias en peso se observaron a altos niveles 0.15 y 0.10 % de gosipol libre.

En 1966, se indicó que la adición de iones de calcio, como hidróxido de calcio, disminuyó el gosipol libre. Además la adición de hierro como sulfato ferroso, también disminuyó el gosipol libre. La adición simultánea de ambos tuvo un efecto sinérgico de disminución. Con respecto a la adición de hidróxido de calcio, sobre el contenido de gosipol, se encontró que el pH alcalino podría también disminuir los niveles de gosipol, libre (5, 13).

En 1966 Hopkins y Chilson determinaron y establecieron que el hierro era efectivo para proteger a los pollos del efecto tóxico de la harinolina (13).

Smith y Clawson en el mismo año, adicionaron sulfato ferroso a dietas conteniendo 244 ppm a 400 ppm de gosipol libre, una proporción de 0.5 : 1 de hierro:gosipol, encontrando una parcial detoxificación (13).

Allen, et.al. determinaron que las sales de hierro son completamente efectivas en la detoxificación del gosipol cuando se adicionan a raciones alimenticias de animales monogástricos, y que altos niveles de calcio en raciones para pollos, permitía velocidades normales de crecimiento cuando se empleaban valores relativamente altos de gosipol (13).

Altschul (1966), informó que hay problemas en lo relacionado a la cantidad y calidad de la proteína, y en lo relacionado

a otros metales como el calcio y su efecto sobre la vitamina E (13).

Phelps, en su revisión señala que las harinolinas comerciales se comportan mejor en raciones para pollos de engorda suplementados con L-lisina. Y señala que el siguiente aminoácido más limitante es la metionina y dietas con altas cantidades de harinolina pueden también ser limitantes en treonina, isoleucina y leucina (13).

Rands señala también, que las sales de hierro son completamente efectivas en la inactivación cuando son añadidas a las raciones de animales de estómago simple. El autor también señaló que para mejor control y menos problemas se utilizan sales purificadas de hierro. Sulfato de hierro seco es la sal purificada a seleccionar (34)

En la conferencia en 1966 sobre inactivación del gosipol con sales de hierro, se concluyó que el sulfato ferroso usado como un aditivo a la ración, hace posible incluir harinolina en cantidades significativas en raciones para aves, sin temor a los efectos indeseables del gosipol y una ración formulada con 15% de harinolina y conteniendo 0.04% de gosipol libre, proporciona un nivel en la ración de únicamente 60 ppm (0.006 %) de gosipol libre. Se concluyó que para pollos de engorda una relación de 2 partes de hierro para una parte de gosipol por peso, efectivamente previenen el efecto dañino sobre el crecimiento por harinolinas altas en gosipol libre, y se recomendó un nivel suplementario de hierro superior a 600 ppm en presencia de niveles de gosipol libre superiores a 300 ppm. Sin embargo, igualmente en la misma conferencia, un grupo de fabricantes de alimento recomendó el uso de hierro en una relación de 1:1 en base a peso para niveles de 600 ppm de gosipol. Y se concluyó que esto debería ser hecho primariamente para evitar el problema de residuo de hierro en los tejidos (24).

En 1969, Davenport y Mc Knight investigaron la inactivación de gosisol en harinolina mediante la adición de hierro, dicha harinolina contuvo un alto contenido de gosisol y se obtuvo por el método de solvente directo. Los niveles de gosisol libre en la ración fueron: 0, 400, 600, 800 ppm. El hierro fue aportado como sulfato ferroso para proporcionar una relación de 0, 4:1, 8:1 y 12:1 hierro:gosisol. Se observó que la ganancia de peso disminuyó conforme los niveles de gosisol se incrementaron. Sin embargo, el hierro fue efectivo en contrarrestar parcialmente los efectos tóxicos. Incrementando la relación 8:1 hierro gosisol, resultó en incremento en las ganancias de peso, sobre la ración sin aporte de hierro y sin mejoramiento en la relación 12:1. Resultados en la conversión alimenticia fueron similares a los de ganancia de peso (14, 34).

Mc Knight y Watts, realizaron otro estudio (27) utilizando pollos en series de experimentos para determinar la relación molar de hierro: gosisol requerida para la inactivación de gosisol. Se utilizaron gosisol-ácido acético y sulfato ferroso heptahidrato para aportar gosisol y hierro. Midiéndose ganancia de peso semanal conversión alimenticia y forma de excreción del gosisol (libre o ligado). Incrementando el nivel de gosisol de la dieta de cero a 800 ppm., mayores cantidades de 200 ppm., resultaron en una reducción en la ganancia de peso. La adición de hierro, resultó en un mejoramiento significativo en la ganancia de peso. No se notó mejoría como resultado de incrementar la relación molar de 1:1.

Al incrementar el nivel de gosisol de la dieta a más de 200 ppm, resultó en un incremento significativo en la cantidad de alimento requerido por unidad de ganancia. La adición de hierro no tuvo efecto sobre la conversión alimenticia.

Hubo una disminución en la excreción de gosisol libre y un incremento en la excreción de gosisol ligado como resulta-

do de la adición de hierro a la ración. Una relación de 4:1 (hierro: gosipol), produjo la máxima inactivación del gosipol conforme se midió por los patrones de excreción de gosipol libre y ligado.

Rojas y Scott (42) observaron que los valores de E.M. de algunos tipos diferentes de harinolina fueron mejorados con tratamiento con una fitasa obtenida por el hongo Aspergillus ficum. La casi completa hidrólisis de la fitina en las harinas, no únicamente liberó el fósforo para su utilización por los pollos, sino también pareció liberar algunas proteínas de los complejos proteína-fitato y aparentemente se redujo también la toxicidad del gosipol de las harinolinas. La hidrólisis por fitasas de la fitina, también produjo una marcada reducción en el requerimiento de zinc de los pollos, por lo cual proporcionó evidencias adicionales de los efectos detrimentales de la quelación de el zinc por fitatos sobre la disponibilidad del zinc de la dieta. La adición de sulfato ferroso también mejoró el contenido de E.M. en dietas conteniendo harinolinas con alto contenido de gosipol, pero no de harinolinas sin glándulas. Cuando las harinolinas fitasa tratadas, altas en gosipol fueron también adicionadas con sulfato ferroso suplementario, hubo un mejoramiento adicional de la E.M. sobre aquella obtenida con hidrólisis fitasa o suplementación de hierro solo.

Schaible menciona en 1970 que cuando se adiciona gosipol puro en la dieta es muy inestable y desaparece en un corto tiempo (43).

### 3.6 Cantidades Toleradas de Gosipol.

Los niveles de tolerancia de gosipol informados en la literatura, varían ampliamente de 1000 ppm (0.1 %) a una cantidad tan pequeña como 160 ppm (0.016 %) (24). Curtin en 1954 (55), señaló que una harinolina degosipolizada podría ser utilizada

para reemplazar 50 % de la pasta de soya en raciones balanceadas para pollo de engorda. Heywang y Bird 1955, mostraron que el gosisol libre en la dieta no debe exceder de 0.016 % a 0.020% ( 42). Señalando por otra parte Graw y Zweigart un nivel no mayor de 0.02 % de gosisol libre para pollos (43). Hill y Totsuka 1964 (42), señalan que niveles de 0.45 % o más altos reducen la E.M. de la dieta. En 1973 (31, 42), se recomendó el uso de harinolas comerciales con 0.04 % o menos gosisol libre como un suplemento en las dietas balanceadas para pollos. En 1970 y 1976 (43, 44), se reafirmó que harinolas con niveles de gosisol libre bajo 0.04 % es tolerado por los pollos y que la harinolina puede constituir 50 % de la fuente de proteína en raciones de pollos de engorda si el nivel de la dieta de gosisol libre era menor de 0.01 %.

La Asociación de Productores de Pasta de Algodón en 1982 (E.U.) (32), informa que el pollo no es afectado por un nivel en la dieta de 150 ppm (0.015 %) de gosisol libre. Y que la tolerancia se incrementa a 400 ppm (0.04 %) adicionando Sulfato ferroso (  $Fe SO_4$  ) en una proporción de 1:1.

#### 4.0 UTILIZACION DE LA HARINOLINA EN LA ALIMENTACION DE GALLINAS DE POSTURA.

El empleo de la harinolina en dietas de aves de postura es más bajo que en dietas para pollos de engorda, debido a que la gallina es más sensible al gosipol libre (44). Su empleo a niveles bajos en dietas para gallinas no es debido únicamente al gosipol, sino también a la pobre calidad de la proteína, la cual en ocasiones es mala debido a un procesamiento inadecuado (26). Además de estos factores, se encuentran los ácidos grasos ciclopropenoides, presentes en el aceite residual de la pasta de algodón (15, 57); el gosipol produce un cambio en la coloración de la yema (verde oliva) y los ácidos grasos ciclopropenoides pigmentan la clara de huevo (rosa salmón) representando lo anterior un problema económico, debido a la respuesta desfavorable por parte del consumidor, ya que la coloración anormal se puede desarrollar después que los huevos han dejado la granja, por lo tanto es extremadamente importante reducir al mínimo estos problemas (52).

La mala calidad de la proteína es debida a que la pasta es deficiente en lisina y la lisina disponible varía con el procesamiento (56).

La harinolina se ha utilizado como suplemento proteico a niveles bajos en dietas de gallinas de postura durante muchos años en ciertas áreas de los Estados Unidos, donde tiene una ventaja económica sobre la pasta de soya (51). En muchas de estas áreas donde la harinolina se utiliza en dietas de postura, el sorgo es la principal fuente de energía de la dieta (52).

#### 4.1 Resultados de Experimentos sobre la Toxicidad de Gosipol.

Muchos informes se han escrito acerca del efecto del

gospol libre en gallinas, a continuación se mencionará una parte de ellos.

Haywang (1947), detectó que gallinas alimentadas con 118 ppm de gospol libre o 1620 ppm de gospol ligado causaban anomalías en la coloración de la yema del huevo, después de 6 meses de almacenamiento, con 59 ppm de gospol libre u 810 ppm de gospol ligado no encontró efecto sobre el color de la yema (50,56).

Carrut (1947) y Kuiken et al. establecieron que el gospol ligado no influenciaba la decoloración de los huevos (56).

En estudios subsecuentes, Heywang y Bird en 1950 informaron que el gospol puro adicionado en la dieta de gallinas tuvo, un efecto adverso apreciable sobre los pesos de los huevos a 240 ppm pero no a 120 ppm (56).

Stephenson y Smith (1952), alimentaron a gallinas con dietas que incluían harinolina obtenida por prensa con tornillos, la cual contribuyó con 20 ppm de gospol libre y con una harinolina obtenida por solventes, la cual proporcionó 1200 ppm. Después de un período de almacenamiento de 6 meses, los huevos producidos por las gallinas alimentadas con 1200 ppm de gospol libre, presentaban yemas oliva, mientras que las yemas de huevos de las gallinas alimentadas con 20 ppm no presentaban anomalías. (56).

Fletcher en 1953, alimentó a gallinas con una dieta conteniendo 30 ppm de gospol libre, el gospol se obtuvo a partir de una mezcla de harinolinas obtenidas por solventes y por prensa hidráulica. Se observó que el 80% de las yemas de los huevos eran anormales en color después de 5 meses del período de almacenamiento (56).

Grau, (1954) ideó el método AGU que consistía en un análisis químico y una prueba biológica. Este método determinaba la cantidad de gospol de la ración que se transfería a la yema de huevo formando un complejo gospol cefalina. La relación entre la cantidad de gospol de la dieta y la densidad óptica de un extracto de la yema de huevo antes y después de la alimentación con harinolina leída en un espectrofotómetro a una longitud de

onda de 400 a 445 milimicrones, la denominó AGU o unidades disponibles de gosipol. El valor AGU fue una correlación preliminar con la determinación química de gosipol libre (43, 52).

En otro estudio por Grau en 1954, se menciona que parece ser que el tratamiento con amoníaco de los huevos puede dar lugar a elevaciones de algunos otros compuestos presentes en la harinolina, no atribuibles al gosipol libre cuando se proporcionaba en alimento a ponedoras (50).

Heywang y Bird en 1954, mostraron una disminución en el consumo de alimento y en la producción de huevo cuando las dietas contenían 160 ppm o más de gosipol libre. También indicaron que niveles de 80 ppm de gosipol proporcionados por una harinolina cruda, estimulaban la producción de huevo (30, 56).

Narain Lyman y Couch (30), realizaron 2 experimentos con gallinas White Leghorn de 6.5 meses de edad. En dietas con 17.5% de proteína, se probó el efecto de niveles altos de gosipol libre sobre el peso corporal, consumo de alimento, producción de huevo y peso del mismo. Los niveles de gosipol libre adicionales a partir de glándulas de semillas en una dieta tipo práctico fueron de 0.00, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25 y 0.35 %. Se encontró que 0.04 % o niveles mayores de gosipol libre eran tóxicos y disminuían el peso corporal severamente bajo las condiciones de este estudio con un número limitado de gallinas (120). El consumo de alimento fue menor a partir de 0.02 % o más gosipol libre. La mortalidad fue normal y las aves mostraron una marcada ganancia de peso y recuperación cuando se alimentaron sobre una dieta normal por un período de 4 semanas entre los 2 experimentos. De esta forma no se produjeron cambios permanentes en las gallinas alimentadas con altos niveles de gosipol libre. Durante el primer experimento de 4 semanas, la producción de huevo se disminuyó rápidamente y se suspendió en los niveles altos de gosipol libre (Cuadro 12), y los huevos dismi-

nuyeron en peso conforme las gallinas fueron disminuyendo la producción (30). No se encontró influencia sobre el peso de los huevos a 200 ppm (0.02 %), pero hubo una reducción cuando se alimentó con 400 ppm (0.04 %) (56).

Heywang en 1947, realizó 2 investigaciones. En la primera indica que la prueba de yema de huevo en atmósfera de amoníaco, no es efectiva en predecir los cambios en color después que los huevos han sido almacenados por 6 meses. En otra investigación presenta datos indicando que 0.25 % y 0.5 % de  $Fe SO_4$  pueden contrarrestar la toxicidad de la harinolina por inactivación de una parte del gosisol libre, pero no totalmente (43).

Dechary en 1957 y Grau (1958) encontraron que harinolinas conteniendo no más de 0.3 unidades de gosisol disponible (AGU), pueden utilizarse en el alimento con seguridad en un 10 % del total de la dieta de gallinas de postura sin cuidado del contenido de gosisol libre (43).

Evans en 1957 y Wamble (1958), también encuentra que niveles bajos de harinolina en dietas de gallinas, eliminan problemas de color en huevos almacenados (43).

En 1958 Frampton y Piccola estudiaron harinolinas comerciales proporcionadas por varios procesadores y concluyeron que para prevenir la anormalidad en color de la yema en huevos almacenados, el total del gosisol y los derivados del gosisol deben ser eliminados durante el procesamiento (43).

En un estudio por Heywang y Lowe en 1959, mostraron que la anomalía en color oliva de las yemas se eliminaba en huevos puestos el día llavo. después de la supresión de raciones que contenían gosisol y ninguna clara rosa apareció después del día 50. (35).

Cuadro 12

NIVELES ALTOS DE GOSIPOL LIBRE EN DIETAS DE GALLINAS, EFECTO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE HUEVO Y EL PESO DE LOS MISMOS (39)

GRUPO	GOSIPOL LIBRE%	PRODUCCIÓN DE HUEVO				PROMEDIO DE EL PESO DE LOS HUEVOS			
		1A, SEM (%)	2A, SEM (%)	3A, SEM (%)	4A, SEM (%)	1A, SEM (g)	2A, SEM (g)	3A, SEM (g)	4A, SEM (g)
1	0.00	16.7	15.5	23.8	61.9	45.7	47.5	51.8	51.0
2	0.02	54.8	21.4	27.4	31.0	50.9	51.3	51.6	50.9
3	0.04	47.6	28.8	31.0	40.5	48.6	50.2	48.4	45.5
4	0.06	26.2	20.2	19.0	26.2	52.5	49.3	51.8	46.8
5	0.08	38.1	33.3	28.6	15.5	49.1	51.5	46.5	38.6
6	0.10	23.8	10.7	3.6	6.0	47.0	38.8	37.0	36.4
7	0.15	29.8	10.7	0.0	0.0	50.2	44.2	-	-
8	0.20	35.7	6.0	0.0	0.0	50.1	38.8	-	-
9	0.25	29.8	0.0	0.0	0.0	47.1	-	-	-
10	0.35	25.0	0.0	0.0	0.0	50.2	-	-	-

Heywang en 1951 indicó que la prueba de amoníaco estaba correlacionada con el cambio de la coloración bajo condiciones normales de almacenamiento en todos los casos (50).

Mann en 1962, encontró que harinolas obtenidas por solventes con mezclas de hexano, acetona y agua pueden ser satisfactorias para gallinas de postura si la producción comercial de estas harinolas puede ser realizado a nivel comercial (35).

Heywang y Vavich (1965), observaron que harinolas libres de gosipol cuando se incluían en las dietas de ponedoras producían resultados favorables (35). En otro trabajo, encontraron que no se producía ninguna decoloración oliva de las yemas en huevos puestos 15 o más días después de suspender raciones que contenían harinola (35).

Reese y Heidebrecht (1966), informaron datos que indican que la adición de 327 ppm de hierro, reducía parcialmente el efecto del gosipol en la yema y que la inclusión de 1308 ppm de hierro prevenía completamente cambios en el color cuando harinolas obtenidas por prensa y solventes, cuando se proporcionaban a niveles mayores de 10% de la dieta (56).

Kemmerer en 1966, indicó que huevos de gallinas alimentadas con una dieta con un nivel de gosipol libre de 40 ppm, podían tener un color aceptable de la yema, igualmente después de 6 meses de almacenamiento. Datos de común acuerdo con los del mismo autor en 1965 y los de Frampton et. al. 1966, Lipstein y Bornstein 1966, Berry et. al. 1968, Proctor et. al. 1968 y Reilich et. al. 1969 (56).

En 1968, Branckaert et. al. (4) proporcionaron 20% de pasta de algodón en el alimento a gallinas de postura que contenía 40% de gosipol. No encontraron diferencias significativas

en la producción durante los 6 primeros meses de postura con relación a los lotes testigo. Y durante todo el año de postura la producción obtenida con 20% de pasta de algodón se consideró también normal tomando en cuenta las condiciones del medio.

En 1970, Waldroup, et. al. (57), condujeron 2 pruebas de alimentación que fueron las siguientes: En una prueba, 2 fuentes de harinolina fueron probadas en dietas tipo práctico para ponedoras. Harinolinas obtenidas por presión por tornillos, las cuales contuvieron 0.02 % gosipol libre y harinolina obtenida por pre prensa solvente con 0.05% de gosipol libre. Cada una de las harinas fue incluida en niveles de 0, 5, 7.5 y 10 % para dietas de harinas de presión por tornillos y prepresión por solventes respectivamente. La suplementación a las dietas con sales de hierro fue examinada, 2 fuentes de hierro (desechado  $Fe SO_4 \cdot H_2O$  e hidratado  $Fe SO_4 \cdot 7 H_2O$ ) se incluyeron a niveles de 0, 150, 300 y 450 ppm. Cada una de las dietas experimentales fue proporcionada como alimento a 3 grupos de 5 gallinas por 3 períodos de 28 días. Se tomaron muestras de los huevos cada semana y se mantuvieron por varios períodos de tiempo en almacenamiento para determinar si la decoloración podría desarrollarse. Los huevos fueron rotos al día de su postura y a intervalos de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 y 12 semanas para examinar la decoloración de la yema, albúmina, grosor del cascarón y calidad de albúmina. Se tomaron datos de producción individual, consumo de alimento y mortalidad. No observaron decoloración de la yema o albúmina en los huevos producidos durante esta prueba. Esto indica que la harinolina que proporciona menos de 50 ppm de gosipol libre a la dieta, puede ser usada en dietas de postura sin que se produzca decoloración de la yema durante el tiempo normal de almacenamiento. El comportamiento de las gallinas no se afectó por el nivel o fuente de harinolina o sales de hierro en la dieta, como no hubo diferencias entre las 2 fuentes de hierro, los promedios de estos grupos se combinaron en el cuadro 13, el cual ilustra la producción/gallina/día y la eficiencia

de la utilización alimenticia durante el estudio. Además del gosipol presente en la harinolina se debe reconocer que el contenido de ácidos grasos ciclopropenoides de la misma puede contribuir a producir coloración rosada de la clara. No se observó coloración de la clara en esta prueba. Las dietas con harinolina de pre prensa solvente contuvieron un máximo de 0.056% y dietas con harinolina de pre presión de tornillos un máximo de 0.45% de aceite de semilla de algodón.

En la 2a. prueba se trató de determinar los niveles de gosipol a los cuales podría resultar coloración anormal de la yema de huevo, un comportamiento adverso y para determinar el grado al cual se pueden usar las sales de hierro para suplementar las dietas de postura, así como para contrarrestar estos efectos.

A las gallinas usadas en la primera prueba se les proporcionó una dieta control a base de soya al final del estudio y se les alimentó por un período de 6 semanas. Se les tomó su record de producción y se aseguró que todas estuvieran en ella. Dos dietas basales fueron mezcladas, una fue la dieta testigo de soya y la segunda una dieta con 9.35% de harinolina obtenida por solventes directos con un alto contenido de gosipol (0.43 %) libre. La dieta basal fue calculada para contener 400 ppm de gosipol libre, las 2 dietas basales fueron proporcionadas con 0, 25, 50, 75, 100, 150, 200 y 400 ppm de gosipol libre. Usando sulfato ferroso anhidro, 100 ppm de hierro adicionado a las dietas conteniendo gosipol para proporcionar hierro: gosipol en relación de 0:1, 4:1, 8:1. Resultando en un total de 22 dietas experimentales. Con cada una de las dietas se alimentó a 4 grupos de 5 gallinas por 3 períodos de producción de 28 días. Se obtuvieron datos de producción de huevo, consumo de alimento y mortalidad durante el experimento. Datos de calidad de los huevos se obtuvieron; los huevos fueron rotos en fresco y a intervalos de almacenamiento de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 y 12 semanas. Se observó decoloración de la yema durante este estudio y se dió un número para

describir la severidad de la decoloración. El 1 indicó ninguna de coloración, el 2 indicó ligera decoloración o moteado, los huevos con este número podrían indicar objeción por parte de las amas de casa. El 3 definida decoloración de las yemas. Ninguna coloración rosada de las claras se observó en ninguno de los huevos rotos durante este período de almacenamiento. El % de producción de huevo no fue afectado seriamente por el nivel de gosipol de la dieta a niveles mayores de 200 ppm. En el nivel hasta de 400 ppm, sin embargo se redujo drásticamente la producción (Cuadro 14). Esta caída en la producción ocurrió casi inmediatamente; sin embargo no ocurrió una cesación completa de la producción. La suplementación de esta dieta con sulfato ferroso en relación de 4:1 u 8:1 hierro:gosipol, resultó en un incremento en la producción de huevo aunque fue menor que el obtenido sobre otras dietas. El gosipol deprime la ingestión de alimento y las gallinas alimentadas en la dieta con 400 ppm, consumieron significativamente menos alimento que aquellas alimentadas con otras dietas. Esta reducción en la ingestión de alimento es muy probable que sea la causa primaria de la baja producción de huevo. La suplementación de estas dietas con sulfato ferroso elevó la ingestión de alimento a un nivel normal. El promedio de peso de los huevos se deprimió con los más altos niveles de gosipol; de nuevo las sales de hierro fueron efectivas en reducir o eliminar esta disminución en el peso. Desde el punto de vista comercial la parte más significativa de este estudio fue el número de evaluación de la yema. Cuando los huevos fueron rotos en fresco no se observó decoloración a niveles hasta de 75 ppm y únicamente una ligera coloración hasta con 150 ppm. Se desarrolló un incremento en la coloración en huevos frescos de gallinas alimentadas con 200 ppm de gosipol, pero esto se contrarrestó por la suplementación de hierro. En huevos mantenidos en 2 semanas de almacenamiento el número de la coloración de la yema fue más variable. Algo de moteado de la yema fue notado sobre la dieta testigo a base de soya y por lo tanto no fue debida a gosipol. La incidencia de coloración fue muy baja con un nivel de 150 ppm de

gosipol. La adición de sales de hierro redujo pero no eliminó completamente la decoloración de los huevos de gallinas alimentadas con 150, 200 o 400 ppm de gosipol. En huevos mantenidos por un período de 6 a 8 semanas, niveles hasta de 50 ppm, no incrementaron grandemente la incidencia de moteado o coloración. Niveles de 75 ppm o mayores, tuvieron una alta incidencia de coloración indeseable, la cual podría ser reducida pero no completamente eliminada por la adición de sulfato ferroso. Muchos de los huevos que dieron un número de 2 tuvieron coloración o moteado, el cual no pareció ser típico de coloración del gosipol, el grado de coloración no se incrementó cuando estos huevos fueron alojados en una atmósfera de amoníaco. El examen del número total de huevos rotos en cada categoría indica que algunos con el número 2 se encontraron entre los huevos de gallinas alimentadas con la dieta control. Hay evidencia de que algunos de los huevos decolorados pueden estar relacionados al nivel de hierro de la dieta más que a los niveles de gosipol. El número 3 fue definitivamente objetable. Los resultados de esta prueba indican que dietas conteniendo hasta 50 ppm de gosipol libre son relativamente seguras para gallinas de postura, especialmente cuando se suplementaron con sales disponibles de hierro. Mayores niveles pueden ser tolerados si el intervalo de tiempo entre la producción y el consumo no es mayor de 2 semanas. Sin embargo un nivel de 50 ppm representa la máxima cantidad, la cual debería ser tolerada en un alimento comercial para ponedoras.

Roberson en 1970, condujo un estudio sobre 2 períodos de postura en los cuales 50 o 100 % de la pasta de soya fue substituida con una harinolina sin glándulas. En el análisis se encontró que la harinolina contenía trazas de gosipol (debida posiblemente a contaminación durante el procesamiento) y contuvo 2.2 % de aceite residual considerado mayor del encontrado normalmente en la harinolina. El nivel más alto de gosipol libre encontrado en las dietas fue de 13 ppm y por lo tanto no se consideró como problema; sin embargo la cantidad de aceite residual

Cuadro 13

EFFECTO DE LA HARINOLINA SOBRE EL % DE PRODUCCIÓN EN HUEVO Y EFICIENCIA ALIMENTICIA. (57)

% DE HARINOLINA	HIERRO ADICIONADO (ppm )	PROMEDIO DE % DE POSTURA	PROMEDIO* DE EFICIENCIA ALI- MENTICIA
0-----	* 0	68.9	140
	150	69.3	147
	300	67.5	149
	450	71.3	140
	Promedio -----		
5-----	0	70.7	168
	150	71.2	145
	300	72.1	141
	450	71.6	160
	Promedio -----		
7.5-----	0	67.7	152
	150	71.4	147
	300	71.7	153
	450	72.3	149
	Promedio -----		
10.0-----	0	72.9	155
	150	69.8	158
	300	74.1	156
	450	69.6	160

\* gramo de alimento por huevo

Cuadro 14

EFFECTO DEL GOSIPOL SOBRE EL COMPORTAMIENTO DE LAS GALLINAS DE POSTURA DURANTE EL PERÍODO DE 34 DÍAS DE PRUEBA DE ALIMENTACIÓN (PRUEBA 2) (57)

GOSIPOL (ppm)	F <sub>c</sub> (ppm)	% DE PROD. DE HUEVO.	INGESTIÓN DIARIA DE ALIMENTO(g)	PESO DE LOS HUEVOS (g)
0	100	67.4	86	64.5
25	0	72.7	92	60.0
	100	70.9	91	62.3
	200	71.2	91	61.0
50	0	73.1	90	60.8
	200	71.7	90	60.7
	400	69.5	93	60.7
75	0	70.4	104	62.1
	300	70.5	92	64.0
	600	69.3	89	62.4
100	0	69.1	89	58.9
	400	70.8	92	62.4
	800	69.6	93	62.4
150	0	65.7	87	57.4
	600	68.5	98	60.9
	1200	70.6	89	61.8
200	0	69.3	89	59.3
	800	67.4	106	61.5
	1600	66.9	90	61.6
400	0	35.7	65	50.1
	1600	62.9	91	63.5
	3200	61.8	90	62.0

de la semilla de algodón a ambos niveles de substitución de harinolina excedió el máximo recomendado de 0.1 %. Los resultados de este estudio se muestran en el cuadro 15 (52).

Quisenberry y González en 1970 (37), realizaron un estudio con gallinas de postura en las cuales, harinolinas sin glándulas reemplazaron completamente la harina de soya de la dieta. Los resultados de estos estudios indicaron que el % de producción de huevo y conversión alimenticia en ambos experimentos fue significativamente mejor para las dietas de gallinas alimentadas con harinolinas. El peso de los huevos de gallinas alimentadas con harinolina se redujo ligeramente en un experimento, pero se incrementó en el segundo estudio. Los huevos producidos fueron almacenados hasta los 90 días y examinados para observar la decoloración de la yema o clara, en estos experimentos no se observaron efectos adversos (52).

Reid en 1972, alimentó a gallinas de postura con dietas conteniendo más de 40 % de harinolina regular o amoniaca durante 4 semanas. En relación a la dieta testigo de pasta de soya, ninguna de las harinolinas fue detrimental en la producción de huevo (51).

Waldroup y Goodner en 1973 (56), condujeron varios estudios con gallinas productoras de huevo para plato, para intentar definir mejor los niveles de gosisol aceptables y para determinar la efectividad de sales de hierro en la reducción o eliminación de la coloración oliva de la yema inducida por el gosisol.

De estos estudios, los autores confirmaron que niveles de alimentación hasta 50 ppm de gosisol libre proporcionado a gallinas de postura con y sin la adición de sales de hierro, no tuvieron efectos adversos sobre el % de producción y peso de los huevos, Unidades Haugh o utilización alimenticia. Se examinaron huevos almacenados hasta las 12 semanas y no indicaron cambio de

Cuadro 15

EFFECTOS DE VARIAS PROPORCIONES DE PASTA DE SOYA Y HARINOLINA SIN GLÁNDULAS SOBRE VARIAS CARACTERÍSTICAS DE PRODUCCIÓN EN GALLINAS DE POSTURA. (52)

MEDIDA	EXP. 1	EXP.2	EXP.1	EXP.2	EXP.1	EXP.2
Soya/harinolina	100/0		50/50		0/100	
% de harinolina	0.0		8.58		17.16	
% de aceite de algodón	0.00		0.19		0.38	
Producción de huevo(%)	76.8	76.5	78.3	77.3	76.4	76.6
Kgs. de alimento/kg de huevo	2.48	2.48	2.42	2.39	2.51	2.43
Peso de los huevos ( g ).	60.9	60.1	61.2	60.7	60.5	60.9
Ganancia de peso corporal(g)	200	136	227	118	213	127
Decoloración de la yema (%)	0.2	4.2	4.6	15.8	11.4	52.2
Claros rosadas (%)	0	0	0	0.2	0	10.0
% de mortalidad	11.8	15.2	7.9	12.5	13.0	17.7

color de la clara o de la yema en este estudio. La efectividad de las sales de hierro en una proporción de 4:1 se examinó en el segundo estudio (Cuadro 16). No se observaron efectos adversos sobre el % de producción de huevo con niveles de gosipol libre hasta de 200 ppm; la producción se redujo a 400 ppm de gosipol, pero no varió significativamente de aquel de las gallinas alimentadas con la dieta testigo. No se observaron efectos adversos sobre el nivel de gosipol observado sobre la ingestión de alimento o promedio del peso de los huevos durante este experimento. Los huevos producidos durante este estudio fueron almacenados por intervalos hasta de 12 semanas y examinados para coloración de la yema. Se asignaron números a las yemas para determinar el grado de decoloración. El número 1 indicó ninguna decoloración aparente, el número 2 ligera decoloración o moteado, la que fue aparente al examinar minuciosamente los huevos, se puede considerar sin objeción. Un número 3 indicó definitiva decoloración objetable. Incrementando el nivel de gosipol libre resultó en un incremento en el número de huevos con decoloración de la yema, la cual fue de la misma magnitud igualmente en gallinas que recibieron hierro en una relación de 8:1. La decoloración de la yema no pareció típica decoloración y estuvo presente en algún grado en los huevos de gallinas alimentadas con pasta de soya. Es probable que esto se debiera al aceite residual en la harinolina más que al gosipol. No se observaron efectos adversos sobre la coloración de la yema en huevos almacenados hasta las 4 semanas (50, 52).

Waldroup y Goodner en 1973, observaron una reducción en los cambios de coloración de la yema cuando el hierro se adicionó a dietas de gallinas alimentadas con harinolina amoniacaal --- (50).

Mayorga, González y Menchú (1975) (26), investigaron el efecto de 2 aditivos; sulfato ferroso e hidróxido de calcio y un tratamiento de calor seco continuo de la harinolina, 0.25 % de

Cuadro 16

EFFECTO DE DIFERENTES NIVELES DE GOSIPOL LIBRE CON LA SUPLEMEN-  
TACIÓN EN LA DIETA DE GALLINAS DE POSTURA. (56)

GOSIPOL LIBRE DE LA DIETA (%) <sup>1</sup>	% DE PRODUC- CIÓN DE HUE- VO.	ALIMENTO/ DÍA (g)	PESO DE LOS HUE VOS (g)	Nº DE HUEVOS CON DECOLORA- CIÓN DE LA YEMA <sup>2</sup>		
				NINGUNO	LTIGERA	OBJETABLE
0	67.38	86	64.5	193	5	0
25	70.93	91	62.3	185	13	0
50	71.72	90	60.7	186	12	0
75	70.52	92	64.0	168	27	3
100	70.82	92	62.4	171	26	1
150	68.46	98	60.9	167	31	0
200	67.43	106	61.5	145	37	16
400	62.97	91	63.5	123	52	23

1. Adición de hierro en una relación de 4:1 en relación a gosipol. 2. Inclu-  
ye huevos rotos frescos y a intervalos hasta las 12 semanas.

Fe SO<sub>4</sub>: 7 H<sub>2</sub>O y 0.5 % Ca (OH)<sub>2</sub> fueron usados en estas pruebas. Harinolina pre prensa solvente y de presión con tornillos y mezclas 50-50 de presión por tornillos y solvente directo fueron usadas. Llevaron a cabo varias pruebas de alimentación con gallinas White Leghorn; 8 harinolas obtenidas por presión de tornillos, pre prensa solvente con y sin reducción de gosipol fueron adicionados a raciones a niveles de 15 %, 9 lotes de 15 pollas cada uno recibieron esta dieta.

En esta prueba 1% de Ca (OH)<sub>2</sub> o 0.1 % Fe SO<sub>4</sub> fueron adicionados independientemente o en combinación. La adición de 1 % de Ca (OH)<sub>2</sub> o 0.1 % Fe SO<sub>4</sub>, redujo el gosipol libre, pero cuando se adicionaron juntos, el gosipol libre se redujo en mayor grado. En ninguna de las pruebas se observó una reducción significativa en la solubilidad del nitrógeno. Se sugiere que los iones ferrosos pueden actuar como un agente reductor o quizá como un agente quelante. Por otra parte la efectividad del hidróxido de calcio parece estar relacionado a su alcalinidad. Cuando las muestras fueron tratadas con calor se observó una reducción en el gosipol libre en todos los casos, pero de nuevo la combinación de sulfato ferroso e hidróxido de calcio pareció ser más efectivo. Cerca del 60 % del gosipol libre inicial fue destruido por el tratamiento combinado (calor más sales). Igualmente después de 90 min. a 130°C no hubo una reducción en la lisina disponible.

De las pruebas de alimentación. El análisis de varianza mostró que la producción de huevo en todos los lotes fue igual al lote testigo, con excepción de lotes alimentados con harinolas obtenidas por el proceso de presión por tornillos, donde el grupo testigo fue significativamente superior. Los resultados mostraron que el contenido de gosipol libre en las dietas no afectó significativamente la producción de huevo a los niveles de gosipol estudiados. En el caso de harinolas prensadas con tornillos, fue obvio que la baja producción de huevo se debió a la baja calidad y pobre cantidad de la proteína disponible. En --

cuanto a la decoloración de los huevos, la prueba del amoníaco mostró que harinolas tratadas por pre prensa solvente o presión con tornillos, se pueden utilizar en niveles de 15 % sin problemas de decoloración. Sin embargo cuando esas harinas sin reducción de gosipol libre fueron usadas, los huevos producidos presentaron decoloración de la yema en la prueba del amoníaco. Harinas obtenidas por un proceso de solvente directo y mezcla de 50-50 con harinola prensada con tornillos, presentaron decoloraciones en los huevos, igualmente cuando aquellas harinolas fueron tratadas para reducir el gosipol libre. Las predicciones obtenidas de la prueba de amoníaco fueron corroboradas con la inspección de los huevos almacenados por tres meses a temperatura de 6°C.

En 1975, Vohra, et. al. (50), no observaron ninguna diferencia estadística en la producción de huevo, cambios en el peso corporal, peso de los huevos o unidades Haugh en gallinas White Leghorn alimentadas con 10 o 15 % de harinola comercial o con una pasta que había sido sometida a tratamiento con amoníaco para inactivar las aflatoxinas. Los huevos rotos de las gallinas alimentadas con harinola tratada con amoníaco, al ser expuestos a una atmósfera con amoníaco, presentaban coloración de la yema similar a una inducida por gosipol; ésta coloración no fue muy notable en huevos de gallinas alimentadas con una harinola comercial. Ambas harinolas contenían casi el mismo nivel de gosipol libre. Esta coloración no fue contrarrestada con cuatro partes de hierro por cada parte de gosipol libre en la dieta. El amoníaco residual en la dieta no fue responsable de ésta coloración. La exposición de los huevos rotos a vapores de amoníaco fue esencial para notar cambios en la coloración de la yema; el almacenamiento de estos huevos por un mes a temperatura ambiente sin embargo no causó coloración anormal. Parece que el tratamiento con amoníaco puede dar elevaciones de algunos compuestos en la harinola, los cuales no son gosipol libre, pero que incrementa la coloración de la yema del mismo tipo como la inducida

por el gopipol libre.

Waldroup y Hazen en 1976 (51), condujeron varios estudios para evaluar la harinolina tratada con amoníaco, conociendo que la amonización ha sido propuesta como medio de reducción del nivel de aflatoxinas en alimentos contaminados. Proporcionando harinolina amoniataada en la dieta de gallinas de postura para determinar una posible destrucción de nutrientes. Los resultados obtenidos mostraron que no hubo diferencias significativas entre las gallinas alimentadas con la dieta testigo de harina de maíz-soya y aquellas dietas conteniendo hasta 10 % de harinolina sin tratar o amoniataada. Esto ocurrió para todos los criterios examinados ( % de producción de huevo, ingestión diaria de alimento, conversión alimenticia para producción de huevo, promedio de peso corporal y cambios en este ). El consumo de alimento varió de 111 a 120 g por ave diariamente; suficiente para proporcionar niveles de ingestión calculados de 610 a 660 mg del total de aminoácidos azufrados (metionina más cistina) diariamente, cantidad considerada como satisfactoria para mantener un adecuado % de producción de huevo. Por lo tanto a estos niveles de consumo de alimento, no se observaron efectos detrimentales con la alimentación de harinolinas amoniataadas. No se observó cambio de color en las yemas cuando se midió la calidad interna. En un segundo experimento se comparó el comportamiento de gallinas alimentadas conteniendo mayores niveles de harinolina amoniataada y harinolina sin tratar en la primera prueba y para simular las condiciones de calor y reducción de ingestión de alimento. Se obtuvieron comparaciones entre los tratamientos experimentales y no se encontraron diferencias en el % de producción de huevo por gallina/día. La alimentación limitada de dietas a base de maíz resultó en una reducción significativa sobre la producción de huevo al compararla a la alimentación ad libitum de dietas a base de maíz y sorgo. Se encontraron grandes diferencias en el peso de los huevos entre las 15 dietas individuales. Mucha de esta diferencia se relacionó a la limitada ingestión de alimento. Las ga-

llinas alimentadas con las dietas de harinolina amoniata, tuvieron huevos más pequeños que aquellas alimentadas con harinolina sin tratar cuando las dietas se proporcionaron ad libitum, pero no cuando se controló la ingestión de alimento. La ingestión voluntaria de alimento se redujo significativamente en 6 - 8 g por día cuando las dietas incluyeron harinolina, la cual podría contribuir también a la reducción en el tamaño de los huevos sobre estas dietas.

Como resultado de la reducida ingestión de alimento sin una reducción significativa en el % de la producción de huevo, eficiencia y conversión alimenticia (gramos de alimento por huevo producido) favoreció a las gallinas alimentadas ad libitum con harinolina amoniata, pero no bajo condiciones de alimentación controlada. Se observaron diferencias en el cambio de peso corporal durante el curso de este estudio, pero no mostraron una tendencia definitiva. Los resultados de este experimento sugieren que el proceso de amonización aparentemente no resulta en suficiente daño a la harinolina para afectar el % de producción de huevo de ponedoras, igualmente cuando la ingestión es limitada a menos de los niveles de ingestión voluntaria; sin embargo se pueden anticipar pequeñas reducciones en el peso de los huevos.

Un tercer experimento fue conducido para evaluar la harinolina amoniata bajo condiciones de limitada ingestión de aminoácidos para determinar el grado de daño a los nutrientes de la harina. Se indicó que el total de huevos fue generalmente menor sobre dietas conteniendo harinolina amoniata al compararla a aquel de gallinas alimentadas con similares niveles de la harina no tratada. El número total de huevos se redujo aproximadamente en 9 % y las pérdidas de peso corporal se incrementaron a 19 %, sugiriendo que las gallinas pudieron usar los aminoácidos de la dieta para construir la proteína del huevo, a expensas del mantenimiento corporal. No se observaron problemas en ninguno de estos 3 experimentos que pudieran sugerir algún posi

ble efecto adverso del proceso de amonización sobre la salud y el bienestar de las gallinas o sobre la calidad de los huevos producidos. Aunque este proceso puede resultar en una destrucción de parte de la cistina presente en la harinolina. Concluyendo que la amonización de las harinolinas puede servir como medio de procesamiento en harinolinas contaminadas con aflatoxinas para su utilización en dietas de gallinas de postura.

Waldroup y Bussell en 1980, condujeron un estudio para determinar la efectividad de una harinolina obtenida por prepreparación solvente, de bajo contenido en gosisol en dietas para pollitas de reemplazo de 6 a 22 semanas de edad. Las dietas se formularon en base de los requerimientos de aminoácidos del NRC 1977, combinando la harinolina con pasta de soya o por la suplementación de aminoácidos sintéticos. El crecimiento de las pollas resultó adecuado y su subsecuente comportamiento como ponedoras (Cuadro 17). Cerca del 20% del total de alimento consumido por una gallina de postura es consumido durante este período de tiempo y esto representa una oportunidad para incrementar el uso de la harinolina en este tipo de dieta (51).

Waldroup (1981) (52), realiza una revisión de varios estudios, los cuales indican que la harinolina puede ser utilizada efectivamente para proveer una porción de la proteína en dietas para pollitas y gallinas de postura. En su revisión se enfatiza la necesidad de considerar varios factores de la harinolina. Aunque sus limitantes o inactivación del gosisol son generalmente la mayor consideración para la harinolina, también el contenido de lisina y su biodisponibilidad; así como contenido de ácidos grasos ciclopropenoides puede ser de igual o mayor importancia. Las recomendaciones para el empleo de la harinolina para este autor son las siguientes: Dietas con niveles elevados de harinolina deben garantizar adecuados niveles no solo de lisina y metionina sino también de los aminoácidos esenciales nutricionalmente hablando; treonina, leucina e isoleucina, los cuales pueden ser

Cuadro 17

COMPORTAMIENTO DE POLLITAS DE REEMPLAZO ALIMENTADAS CON DIETAS DE CRECIMIENTO CON DIFERENTES NIVELES DE HARINOLINA Y SUPLEMEN TACIÓN LIMITADA DE AMINOÁCIDOS (52),

FUENTE DE PROTEÍNA EN DIETAS DE CRECIMIENTO (6-22 SEM).	PESO A LAS 22 SEM. (g) <sup>2</sup>	22 SEM. ALIM/AVE (kg) <sup>2</sup>	% DE PROD GALLINA/DÍA (336 DÍAS) <sup>2</sup>	KG. DE ALIMEN TO/DO-CENA DE HUEVOS <sup>2</sup>	PESO DE LOS HUEVOS (g) <sup>2</sup>
harina de soya	1492	7.013	74.0	1.92	56.4
2 HS + 1 Harinolina	1496	7.182	73.9	1.93	56.3
1 HS + 2 Harinolina	1308	6.728	70.4	2.09	57.7
Harinolina ( H ) <sup>1</sup>	1108	6.214	72.4	1.97	56.4
Harinolina+Aminoácido	1222	6.356	71.3	2.08	57.1

1. Estas dietas no tomaron en cuenta los requerimientos del NRC.

2. No difirieron significativamente.

HS - Harina de soya

deficientes con altos niveles de harinolina . Los fabricantes de alimentos tienen que cuidar los niveles máximos recomendados de gosipol libre, en la práctica se debe considerar un margen de seguridad, para la variación existente en el gosipol libre debido a la variedad de semilla de algodón y técnicas de procesamiento. Esto es especialmente crítico en alimento para ponedoras, un nivel de gosipol excesivo o lípidos residuales en la pasta de algodón pueden ser mucho más severos que en dietas para pollos de engorda. Un buen control de calidad podrá contribuir grandemente a aumentar el uso de la harinolina en todas las especies de aves. En la opinión del autor el factor clave que puede determinar que se utilice un mayor % de harinolina en la alimentación de pollas será la producción de pastas de calidad para uso de monogástricos. Las harinolinas obtenidas por prensa son bajas en gosipol libre y aceites residuales y contienen más del 50% de proteína con mínimo daño de procesamiento y son mucho más bajas en fibra y consecuentemente más altas en energía que la mayoría de las harinolinas producidas en ese momento en los Estados Unidos. Dichas harinas podrían ser empleadas en la industria avícola en sus dietas con mayor confianza y pueden contribuir a la producción económica de las aves en muchas partes del mundo.

#### 4.2 Alteraciones sobre la Calidad Interna del Huevo.

Muy bajos niveles de gosipol libre en la ración de gallinas de postura pueden causar coloración anormal de la yema de huevo, cuando los huevos son sometidos al almacenaje, debido a que pequeñas cantidades de gosipol son transferidas al huevo. Una reacción química lenta ocurren entre el gosipol y componentes de la yema de huevo, resultado en obscurecimiento de la yema en huevos que han sido mantenidos en almacenamiento frío por largos períodos de tiempo (43). El aceite de semilla de algodón contiene 2 substancias responsables de la mala calidad interna del huevo. Los ácidos grasos ciclopropenoides, ácidos malvárico y estercúlico, los cuales causan una coloración rosada de la clara de huevo

cuando las gallinas reciben aceite de algodón (12). Pequeñas cantidades de gosipol pueden producir una grave coloración verde azulosa de la yema junto con un moteado verde. El efecto del gosipol es particularmente evidente en huevos almacenados unos días después de su puesta (12, 44). Estos ácidos grasos también causan una mayor deposición de ácido esteárico y palmítico en los depósitos grasos, así pues el huevo y la grasa orgánica de las gallinas que consumen aceite de algodón tienen una mayor proporción de ácido esteárico que cuando se suministran otras grasas, considerándose a estos ácidos grasos de la harinolina como causantes del color rosado (12).

En 1890, Roberts y Rice describieron la pequeña y oscura yema encontrada en huevos producidos por gallinas alimentadas con harinolina y en el año siguiente reportaron este hallazgo (43) .

En 1923 en el Colegio de Oklahoma A & M hicieron experimentos en los que mostraron que con no más de 8 % de harinolina en la dieta de postura no se desarrolla este cambio de color en la yema. Haciendo énfasis en que este tipo particular de coloración en la yema causado por grandes cantidades de harinolina no significa, que el huevo esté descompuesto, pero es dulce y claro, perfectamente normal excepto en color. El empleo de 2.5 % de harinolina de la dieta para gallinas, no desarrolló yemas verde oliva comunmente llamadas "yemas de harinolina"

Sherwood en 1928 y en 1931, describió un tipo de decolo-

ración en el cual las yemas de huevos de gallinas alimentadas con harinolina cambiaban a color salmón y las claras de huevo cambiaron a rosa durante el almacenamiento. Observó también que los huevos tuvieron más yema y menos clara que los huevos almacenados normalmente y que la yema contuvo menos grasa y más agua que la yema de huevo normal. El autor postuló que la substancia causante de la coloración anormal estaba en el aceite de algodón parcialmente refinado, pero no en el "soaps - tock", la harinolina extraída con bajo contenido de grasa o el aceite de algodón altamente refinado (43).

Almquist y Lorenz (1932) encontraron un incremento en el agua y la proteína en las yemas de los huevos de "pasta de algodón" o claras rosadas almacenadas (43).

Shaible en 1933, mostró que el gopisol era el responsable de la decoloración de las yemas (oliva) de huevo de gallinas alimentadas con una dieta conteniendo harinolinas(2,43). El mismo autor en 1934, proporcionó evidencia de que la coloración oliva de la yema en huevos de gallinas alimentadas con gopisol puro o

harinolina, es debido a una reacción entre el gosispol y el hierro de la yema (35). Posteriormente, alimentando con semilla de algodón cruda, produjo albúminas color rojizo ya que la semilla de algodón cruda contenía gosispol y sustancias Halpen, pareciendo probable que este tipo de deterioro es el resultante de la acción de ambas sustancias. De estas investigaciones concluyó que cualquier tipo de gosispol libre o ligado era el factor oliva de la yema y descubrió que el tiempo requerido para que se desarrollara el color oliva de las yemas, se podía reducir a minutos por exposición de los huevos a una atmósfera de amoníaco (2, 43).

Lamon y Lee informaron la apariencia de yemas color oliva en huevos puestos por gallinas que recibieron harinolina (43).

Lorenz menciona que el daño de los huevos que resulta de alimentación con harinolina a gallinas de postura, es causada por 2 distintas sustancias las cuales tienen efectos separados sobre los huevos. El gosispol da a la yema un color verde oliva y una consistencia gelatinosa. La otra sustancia la cual es idéntica o asociada cercanamente con la sustancia Halpen causa un agrandamiento de la yema y un color rojizo de la misma y albúmina que se desarrolla durante el almacenamiento. Los huevos de gallinas alimentadas con pasta de algodón desarrollan una combinación de estas anomalías. La sustancia Halpen se encuentra también en otras plantas malvaceas y los huevos de gallinas alimentadas con dichas plantas desarrollan únicamente el último grupo de los defectos (35, 43).

Ringrose et. al. en 1941, encontraron que el aceite crudo de algodón que contenía gosispol, disminuía la incubabilidad de los huevos, pero el aceite de mesa de algodón que había sido tratado con álcali para remover el gosispol no lo hizo (35).

Schaible (1946); Sherwood (1928); Almiquist y Lorenz (1932) mencionan que el defecto fundamental en los huevos de desarrollar claras rosadas y yemas color salmón, parece ser por una debilidad

de la membrana vitelina. En ese mismo año (1946), Schaible y Bandermer encontraron que en los huevos hay transporte de hierro de la yema hacia la clara donde reacciona con la conalbúmina de la clara para formar un compuesto rosa hierro - conalbúmina y un pasaje de conalbúmina de la clara hacia la yema donde reacciona con el hierro de la yema para dar un color rosado, el cual cuando se une con los pigmentos de la yema normal dá un color salmón.

Igualmente observó claras rosadas y yemas agrandadas en huevos de gallinas alimentadas con raciones sin pasta de algodón después de 20 a 42 meses de almacenamiento en frío (35, 43). También, que la coloración anormal en yemas se desarrollaba después de aproximadamente 4 meses de almacenamiento de los huevos de gallinas alimentadas con pasta de algodón en la ración. Cada gallina reacciona diferente con raciones de pasta de algodón; algunas produjeron huevos con decoloración al almacenamiento, mientras en otras, esto no ocurrió después de almacenamiento y contuvieron menos amoníaco en la yema y más en la clara comparadas con huevos normales, más hierro en la clara y menos en la yema.

Brant y Carver en 1957, mostraron una producción de huevo comparable entre una dieta con 22.5 % de pasta de soya y otra conteniendo 5 % de harinolina, 17 % de pasta de soya y 3 % de harina de pescado. En otro estudio se incorporó 13 % de harinolina en las dietas de iniciación y desarrollo para pollitas seguido por 5 % en la ración de postura. No hubo efecto adverso sobre los pesos de los huevos puestos primeramente o durante el año de postura (35).

Groshke en 1947, sugirió en su reporte que niveles altos de glándulas de pigmento de gosipol, disminuyeron la incubabilidad (35).

En 1949, Heywang encontró que niveles altos de glándulas de pigmento fueron detrimentales, sin embargo la más alta incubabilidad fue de un lote de gallinas alimentadas con niveles relati

vamente altos de 120 ppm (0.012 %) de gosipol libre (35). Pero con 240 (0.024 %) o 360 ppm (0.036 %) sí disminuyó el peso de los huevos y la incubabilidad, relacionando el gosipol a la decoloración de los huevos.

Stephenson y Smith en 1952, no observaron yemas color oliva o claras rosadas en huevos almacenados durante 6 meses de gallinas alimentadas con dietas conteniendo 20 % de harinolina obtenida por prensa de tornillos (43). Niveles altos de 240 ppm de gosipol purificado no afectaron la incubabilidad, pero los autores creyeron que la inactivación del gosipol ocurrió antes en las raciones alimenticias. Con 260 ppm de glándulas de pigmento libres, se causó una disminución en la incubabilidad. La suplementación con lisina, no contrarrestó esta depresión (35).

Evans en 1954, observó que algunas de las proteínas migraron de la clara de huevo a las yemas en las aves alimentadas con harinolina, pero notaron que la ovalbúmina migró a mayor extensión que las otras proteínas (43).

Woronick y Grau encontraron que con la alimentación a gallinas de postura con gosipol, este se depositó en la yema de huevo, una porción como complejo cefalina-gosipol y otra porción gosipol-proteína (2, 24), y señalaron que el gosipol podría haber alcanzado el óvulo en el ovario a través de la sangre antes de la formación del cascarón de huevo.

Heywang y Bird en 1954, encontraron que los compuestos de la semilla de algodón responsables de claras rosadas estaban presentes en semillas de algodón crudas, en las glándulas de pigmento de semillas de algodón crudas y en aceite crudo de semilla de algodón, pero no en la corteza de la misma. También estaban presentes en harinolina extraída con hexano pero no en harinolina extraída con metil etil cetona o isobutano. Trabajaron con aves adultas usando bajos niveles de gosipol libre 0.02% en sus experimentos, la producción de huevo y el consumo de la dieta se afectaron adversamente,

pero este nivel no afectó el peso de las gallinas. Se condujeron 2 experimentos de 4 semanas de duración cada uno sobre el mismo lote de gallinas White Leghorn para probar los efectos de altos niveles de gosipol libre, sobre el peso corporal, consumo de alimento, producción de huevo y peso de los huevos. Los niveles de gosipol libre adicionados en la forma de glándulas de pigmento a una dieta tipo práctico varió de 0.02 a 0.35 % de la dieta. En contrando que 0.04 % y mayores niveles de gosipol libre son tóxicos y deprimen los pesos severamente, bajo las condiciones de este estudio con un número limitado de gallinas. El consumo de alimento se redujo a niveles de gosipol libre de 0.02 % o más altos. La mortalidad fue normal y las aves mostraron una notable ganancia de peso y recuperación cuando se cambió una dieta normal por un período de 4 semanas entre los 2 experimentos. De esta manera no se produjeron cambios permanentes en las gallinas alimentadas con altos niveles de gosipol libre y los huevos fueron más pequeños en tamaño conforme las gallinas salieron de producción (43).

En otro informe por los mismos autores, condujeron 2 experimentos durante 180 y 168 días con grupos de 25 pollitas White Leghorn. En el primer experimento una semilla de algodón descortezada cruda se adicionó en la dieta como fuente de gosipol a niveles aproximados de .008, .012, .016, .020, .025, y .033 %.

En el segundo experimento la semilla de algodón descortezada cruda fue la fuente en algunas de las dietas, una harinolina extraída con solventes fue la fuente en otras dietas con niveles de gosipol libre de .008, .012 y .020 % aproximadamente. En ambos experimentos, el promedio total de producción de huevo fue mayor y el promedio total de consumo de la dieta por polla al menos no bajó en los grupos alimentados de dietas con .008 y .012% de gosipol libre respecto al grupo testigo. Los datos de los 2 experimentos mostraron que tanto la producción de huevo como el consumo de la dieta se afectó adversamente cuando las dietas contenían .020 % o más gosipol libre. Los resultados también parecen in

dicar que el gósipol libre tuvo efectos adversos sobre la producción de huevo y el consumo de la dieta a un nivel de .016 %. El gósipol libre a los niveles de .008, .012, .016 y .020 % no afectó adversamente el peso de las pollas (35, 43, 24). Señalando también que 0.008 % de gósipol en las raciones de gallinas de postura, resultó en severa coloración verde de la yema de huevos almacenados y también mostraron que únicamente 3 de 6,300 huevos frescos y almacenados de gallinas alimentados tradicionalmente con harinolas bajas en grasa tuvieron decoloración rosada.

Couch et al. en 1955, encontraron que el gósipol en la dieta afectó el crecimiento y desarrollo de las gallinas (2, 56) y que niveles altos de gósipol, están correlacionados con una mayor mortalidad en algunas pruebas.

Shenstone y Vickery en 1956, extractaron una fracción de ácidos grasos de Malva spp que contenía más de 20 % de ácido Halpen, cuando ofrecieron en el alimento 0.2 ml por gallina por día, el 71 % de los huevos puestos sufrieron cambios en la coloración después del almacenamiento (43).

Narain et al. en 1957, mostraron que el gósipol puro cuando es inyectado a gallinas de postura en forma de una solución oleosa es altamente tóxico y eventualmente produce la muerte (30, 43). En otro estudio se indicó que el consumo de alimento disminuyó con niveles de gósipol libre de 200 ppm (0.02 %), no se encontró ningún efecto sobre el peso de los huevos a este mismo nivel (gósipol de las glándulas de pigmento) (56). También se ha observado reducción en el consumo de alimento y peso del huevo cuando se utilizó un alimento con 400 ppm (0.04 %) (35). En algunos experimentos una mejora en la producción de huevo se observó por la presencia de gósipol, el incremento no persistió más allá de la tercera semana de producción deteniéndose totalmente cuando se administraron 1500 ppm (0.15 %) (56).

Heywang en 1957, menciona que la alta incidencia de claras rosadas encontradas en algunos de los experimentos, indican un alto contenido de grasa residual en las harinolinas (35).

Eagle y Davis en 1957, Milligan y Bird en 1951, sugirieron que niveles altos de gospol no están relacionados con la mortalidad (56).

Ferguson en 1957, encontró que el ovario de gallinas se afectó por la alimentación de gospol, indicando que parte del proceso de ruptura en el ovario puede ser un resultado de la inaniación por alimento conteniendo gospol (33).

Altschul et al. en 1958, citan que gallinas alimentadas con harinolina, produjeron huevos de apariciencia normal en el primer ciclo de postura, sin embargo cuando se almacenaron por un mes o más tiempo se desarrolló coloración anormal de la yema. Además mencionan que probablemente no hay cambios en el valor nutritivo de dichos huevos, pero su apariciencia, los hace invendibles (43).

Shenstone y Vickery en 1959, Bandemer et al. en 1946, encontraron un incremento en el contenido de nitrógeno no proteico y hierro de la clara de huevo, asociada con el color rosado de la clara (35). El nivel de ácidos grasos ciclopropenoides requeridos para afectar la producción de huevo tiene que ser muy elevado en las raciones de tipo práctico (35).

Evans et al. en 1959 y 1954, encontraron un nivel de proteína mayor en las claras de huevo asociado con tonalidad rosada (35).

Doberenz en 1960, Sherwood en 1931, Shenstone y Vickery en 1959, encontraron un incremento en el contenido de agua de la yema en claras de color rosada (35).

Halloran y Cavanagh en 1960, informaron que harinolinas con valores de la prueba AGU por huevo de menos de 0.30, pueden utilizarse a niveles de 5 y 10 % (24). En estudios realizados también mostraron un incremento en la incidencia y grado de moteado de la yema conforme se incrementó la temperatura de almacenamiento (35). Indicaron que las harinolinas usadas para raciones de postura deben ser lo más bajas posible en aceite residual para evitar moteado de las yemas y otros desórdenes.

Azary y Feener 1961 y Schaible y Bandemer 1946, mencionan que las sustancias presentes en la pasta de algodón que aceleran la coloración anormal, rosa de la clara, se debe a una reacción de la conalbúmina con el hierro (35).

Evans en 1962, menciona que otro efecto prominente de los compuestos ciclopropenoides, son mayores niveles de ácido esteárico y menores niveles de ácido oleico en las yemas de huevo (35).

Kemmerer en 1961, 1962, 1963, Schaible et al. en 1934, Lorenz en 1939 y Swensen en 1942, encontraron que los ácidos grasos ciclopropenoides normalmente presentes en el aceite de algodón y en los lípidos residuales en la harinolina tienen un efecto que potencia al gosipol, lo que produce mayor anormalidad en el color oliva de las yemas de los huevos acelerando un incremento en el pH de la yema durante el almacenamiento en frío de los huevos (24, 33, 35). En un estudio realizado, no se encontró coloración rosada en la clara de huevos almacenados durante 6 meses en gallinas alimentadas con no más de 0.1 % de aceite de algodón, un nivel de 0.2 % no produjo problema cuando los huevos fueron almacenados 3 meses, y un nivel permisible se incrementó a 0.5% cuando el período de almacenamiento de los huevos fue de 2 meses. En este estudio se notó que no hay correlación entre el gosipol y los ácidos grasos ciclopropenoides sobre la coloración oliva de la yema, efecto que se debe solo al gosipol; concluyéndose que el contenido en grasa debe ser bajo para evitar problemas, especial-

mente si los huevos van a ser sujetos a almacenamiento prolongado.

Heywang et al. en 1963, notaron que no se presentaba coloración oliva de la yema 5 días después de la suspensión de la alimentación con harinolina (56).

Deutschman en 1964, encontró niveles incrementados de ácido esteárico y disminuídos los niveles de ácido oleico en algunos tejidos de gallinas (35).

Deutschman en 1964, Thompson en 1930, Schaible et al. en 1964, Shenstone y Vickery en 1959, y Frampton et al. en 1962 encontraron un defecto de pH incrementado de la yema asociado con la coloración rosada de la clara (35).

En 1965, varios estudios por Heywang y Vavich y otros autores, mencionan que el gosipol ligado en la harinolina puede contribuir también a la coloración oscura de la yema (24, 35) en gallinas de postura, mostrando una pobre correlación oliva de la yema y la ingestión de gosipol libre. Reportaron que 480 ppm (0.048 %) y mayores niveles de gosipol de harinolina experimental disminuyó la producción de huevo. Por otra parte en otro reporte por los mismos autores, no mostraron diferencias significativas en la producción de huevo cuando la ración contuvo 16.5 % de una harinolina comercial al compararla con harina de soya.

Kemmerer et al. en 1965, demostraron que los niveles de ácidos grasos ciclopropenoides presentes en raciones alimenticias tipo comercial con niveles bajos de harinolina no tienen efectos sobre la incubabilidad de los huevos (35).

Phelps en 1965, menciona que los ácidos ciclopropenoides tienen efecto adverso sobre la incubabilidad. Sugiere que esto es debido a cambios en las proporciones de los ácidos este-

árico y oleico en la yema, y señala que aunque el desarrollo de la clara rosada es considerado como la indicación clásica, la revisión por este autor indica claramente que varias anomalías de la yema pueden resultar igualmente en ausencia de albúmina rosada (52).

Phelps en 1965 y Deutschman et. al. en 1964, indican que la entidad química primaria responsable de coloración rosada en la clara de huevo es un anillo ciclopropenoide incluyendo un compuesto sintetizado químicamente (ciclopropenoide). La incidencia de claras rosadas de huevos se debe a muchos factores, incluyendo duración del período de alimentación, período de almacenamiento, temperatura de almacenamiento y cantidad de ciclopropenoide ingerido (35).

En el año siguiente, en una amplia revisión sobre harinolina, señala que mejoramientos en el proceso de extracción del aceite de la semilla y el incremento en los conocimientos de los efectos biológicos de los compuestos específicos de la harinolina en raciones para monogástricos. El conocimiento de los fabricantes de alimentos de características específicas en varios tipos de harinolina puede permitir igualmente mayor uso de este suplemento protéico en raciones de aves. También en su revisión menciona diversos métodos biológicos y químicos de medición de la calidad de la proteína de la harinolina. Solubilidad del nitrógeno en álcali de la harinolina y medición de la lisina disponible, son métodos útiles para medir la calidad de la proteína, siendo este aminoácido el más limitante en la pasta.

La suplementación de las raciones que contienen harinolina con materiales ricos en lisina, como la harina de pescado de alta calidad o lisina sintética han producido incrementos significativos en las ganancias de peso de los pollos. Conforme las aves se vuelven más viejas y los requerimientos de lisina se reducen, la necesidad de suplementación de lisina de la harinolina

va disminuyendo. Como una ayuda para los fabricantes de alimentos, el contenido de aminoácidos, vitaminas y minerales de las harinolinas ha sido tabulado, junto con otros componentes adicionales importantes (Cuadro 4).

Las investigaciones con gallinas de postura han mostrado que harinolinas de bajo gosipol y bajo contenido de aceite residual pueden ser un ingrediente seguro para gallinas de postura, cuando se emplea al nivel de 15 %, igualmente cuando los huevos son sujetos a almacenamiento.

Mucha información indica que la adición de hierro a raciones con nivel elevado de harinolina, contrarresta los efectos indeseables del pigmento de gosipol. Menciona que miles de toneladas de harinolinas han sido incluídas en raciones de gallinas de postura sin ningún problema de claras rosadas o yemas decoloradas (24). El desarrollo de semillas de algodón sin glándulas y nuevos tipos de solventes para la extracción del aceite se espera que permita igualmente mayores mejorías en la harinolina (no se encontraron efectos adversos sobre las gallinas y huevos en los experimentos realizados por este autor.

Bernardi y Martínez en 1966, encontraron que alimentando a gallinas con niveles en la dieta de 470 a 1000 ppm de gosipol, resultó en reducción de peso de los huevos (56).

Zimmerman en 1966, notó reducido tamaño de los huevos con 440 ppm de gosipol, la producción de huevo no disminuyó sino hasta que la dieta contuvo 800 ppm de gosipol libre (56).

Frampton en 1969, realizó un estudio sobre la coloración de la yema de huevo al incluir harinolina. El desarrollo de la coloración café típica en la yema por harinolina, indicó de pende de 2 factores: La concentración de un cromógeno en la yema y el pH de la periferia de la yema. Este autor utilizó la foto -

grafía de color como medio para medir la intensidad de coloración de las yemas de huevos almacenados. En su estudio, se utilizaron 27 harinolinas en gallinas de postura. Después de 6 meses de almacenamiento los huevos fueron rotos y observados, encontrándose que una mayor intensidad del color de la yema aparece con el tiempo. Llegando a la conclusión, que a mayor período de alimentación de una harinolina, mayor es la concentración de cromógeno en la yema; se evidenció que la concentración de cromógeno no está en función del tiempo de almacenamiento de los huevos; la intensidad de coloración de la yema de los huevos almacenados es determinada por el pH en la periferia de la yema y la concentración de cromógeno en la misma. La coloración de huevos almacenados, producidos por harinolinas que alimentaron a gallinas no pudo estar correlacionado con constituyentes de la pasta de algodón que se midieron como gossypol libre, gossypol total o grupos amino epsilon libres de la lisina.

Ferguson, Rigdon y Couch en 1969, administraron glándulas de pigmento de semilla de algodón conteniendo gossypol para estudiar los efectos tóxicos agudos del gossypol en el consumo de alimento y agua. Los huevos también fueron inyectados con gossypol para determinar los efectos sobre el desarrollo del embrión. En las gallinas hubo una reducción en la ingestión de alimento, disminución en el peso corporal y una reducción o cesación de la producción de huevo. Los síntomas de toxicidad aguda produjeron hemoconcentración. La toxicidad crónica del gossypol resultó en una disminución en la cuenta de eritrocitos durante un estudio de 9 semanas. Se encontró también pigmento café amarillento en la mucosa intestinal, bazo e hígado de las aves. Cuando el gossypol fue retirado de la dieta, el pigmento desapareció del tejido. Al administrar cápsulas conteniendo gossypol puro a gallinas adultas, diariamente, a la aparición de síntomas de toxicidad, se sacrificaron las gallinas y se obtuvieron los tejidos. Los resultados de este estudio indicaron que no hubo diferencia en el nivel de citocromo oxidasa entre las aves testigo y aquellas que recibieron

gosipol. La inyección de gosipol dentro de los huevos resultó en muerte del embrión (52).

Roberson en 1970, condujo un estudio sobre 2 períodos de postura en los cuales 50 a 100 % de la pasta de soya en una dieta de postura fue reemplazado con harinolina sin glándulas. En los análisis se encontró que la harinolina contenía trazas de gosipol (se creyó debido a la contaminación durante el procesamiento) además contuvo 2.2 % de aceite residual, nivel más alto del normalmente encontrado en la harinolina. El más alto nivel de gosipol libre en las dietas fue de 13 ppm aproximadamente y por lo tanto no se consideró ser un problema; sin embargo la cantidad de aceite residual en la pasta de algodón a ambos niveles de sustitución de la harinolina, excedió el máximo recomendado de 0.1 %. La sustitución de 50 a 100 % de la pasta de soya en las dietas de postura por la harinolina sin glándulas, no tuvo efectos adversos sobre el % de la producción de huevo, utilización alimenticia, peso de los huevos, ganancia de peso corporal o mortalidad. Sin embargo, incrementos significativos en coloraciones anormales de las yemas y claras rosadas fueron observados, según la longitud del tiempo de almacenamiento. Las coloraciones de las yemas no se relacionaron a gosipol, pero se relacionaron a la presencia de aceite de algodón en la dieta. Esto enfatiza la importancia de considerar niveles tanto de gosipol como de aceite en la harinolina (52).

Reid en 1972, no observó efectos detrimentales sobre la producción de huevo, tamaño, calidad interior y exterior del mismo, si las dietas de postura contenían 40 % de harinolina amoniata (50).

Payne en el mismo año, tampoco observó efectos adversos sobre la calidad y producción de huevo incluyendo 10 o 12.5% de pasta de algodón amoniata en dietas de postura (34).

Waldroup, et al. condujeron varios estudios para deter -

minar la efectividad de la harinolina en dietas conteniendo maíz o sorgo como grano único. Una harinolina baja en gopisol obtenida por solventes, fortalecida con sulfato ferroso en dietas conteniendo hasta 15 % de harinolina, resultando datos similares para % de producción de huevo, peso o calidad interna del mismo (unidades Haugh, decoloración de albúmina o yema). Cuando las dietas contuvieron maíz como grano cereal, la ingestión diaria de alimento se incrementó significativamente a la vez que la harinolina se incrementó, pero este efecto no se observó cuando el sorgo fue el grano cereal. Los resultados se muestran en el cuadro 17 (52) (1976).

Scott en 1976 (44), menciona que niveles muy bajos de gopisol libre causan coloración anormal de la yema de huevo cuando los huevos son puestos dentro de un almacenaje frío, afectando el peso y la producción de huevo, depresión en la incubabilidad y reducción en la ingestión de alimento.

Liener en 1981 (24), indica que la incorporación de harinolina en gallinas de postura, resulta en coloración anormal de las yemas y claras de muchos huevos almacenados y frescos, explicando que el gopisol es la causa de la coloración oscura (oliva) de las yemas y los ácidos grasos ciclopropenoides (normalmente presentes en el aceite de semilla de algodón y harinolinas) son la causa de coloración rosada de las claras. Sugiriendo también que el gopisol ligado puede contribuir a la coloración de la yema de huevo. La entidad química primaria responsable de las claras rosadas es un ciclopropenoide y el depósito de gopisol en la yema es responsable en la mayor parte de la coloración de la misma y que recientemente han sido dadas consideraciones a la posible interacción de los 2 factores (31).

El incremento de los niveles de gopisol, se correlaciona generalmente con menor incubabilidad de los huevos. El efecto sobre la incubabilidad es complicado por la posible presencia de ciclopropenoides, pero parece ser que menos de 120 ppm de gopisol

en la ración no reduce la incubabilidad. Entre los síntomas generales de toxicidad del gosipol encontrados, el autor cita los siguientes: apetito deprimido, pérdida de peso corporal, disminución en el tamaño de los huevos, decoloración anormal de la yema o clara del huevo. La acumulación de fluido en las cavidades corporales sugiere que la permeabilidad de la membrana está afectada.

#### 4.3 Hallazgos Patológicos Microscópicos.

Abou Donia y Lyman (2), en 1970, realizaron un trabajo para investigar la grasa metabólica por el gosipol alimentado en gallinas de postura. El estudio incluyó la eliminación de gosipol del cuerpo del ave y de su distribución en diferentes tejidos, después de la administración oral de gosipol formil C 14, el cual fue excretado rápidamente por gallinas de postura a través de la orina y heces. Únicamente una pequeña porción se depositó en los tejidos. La mayor parte del gosipol absorbido estuvo concentrado en los huevos. La excreción del gosipol dentro del intestino vía la bilis, pareció no ser una senda por la cual el gosipol absorbido fue excretado. La decarboxilación de gosipol a dióxido de carbono y apogosipol no fue una ruta mayor para el metabolismo del gosipol en las gallinas de postura. El tiempo necesario para eliminar la mitad del gosipol radiactivo (10 mg,  $0.35_n$  Ci) del cuerpo del ave (1 Kg), bajo las condiciones usadas fue de 30 hrs.

El ovario y el oviducto tuvieron considerable actividad un día después de la ingestión de gosipol. La alta actividad del huevo podría ser explicada por el hecho de que los huevos son muy ricos en proteína (16.6, 10.6 % para la yema y clara respectivamente). El mayor contenido de la yema sobre la albúmina es debida al alto contenido de lípidos del primero 36.6 %. Se presentaron evidencias las cuales indican que el gosipol como alimento para gallinas de postura es depositado en la yema como complejos

gosipol-cefalina y gosipol-proteína.

Observaciones histológicas mostraron severas lesiones en pulmones e hígado. Después del primer día la más alta actividad específica fue en la bilis seguida por el hígado. Músculo y tejidos grasos tuvieron menor actividad que el hígado. El contenido del canal alimentario tuvo muy alta actividad específica después del primer día, el ciego tuvo la más alta seguida por el buche, proventrículo, ventrículo, intestino delgado e intestino grueso.

El gosipol puede penetrar al eritrocito debido a su carácter lipofílico probablemente a través de la membrana semilípida, semejante a aquella informada para eritrocitos de mamíferos. El cerebro, que es protegido por una barrera sanguínea cerebral, tuvo una significativa cantidad de actividad 1 y 2 días después de la administración. Esta penetración se atribuyó al alto carácter lipofílico del gosipol. El alto gosipol ligado en el cerebro puede estar relacionado al nivel de fosfolípidos en este órgano.

A 1, 2, 4 y 8 días después de la administración de la dosis, la actividad específica de la bilis fue mucho mayor que en cualquier tejido del cuerpo incluyendo el hígado. Estos datos sugieren que el gosipol es concentrado y transferido de sangre hacia bilis. El gosipol en la circulación entra al hígado del cual emerge (como tal o en estado degradado) vía bilis, pasa a la vesícula biliar. A intervalos la bilis abandona la vesícula biliar por el conducto biliar, el cual descarga hacia el intestino delgado. La alta concentración del total de gosipol en la bilis podría sugerir que es secretado "activamente" dentro de la bilis. El pH de la bilis incrementa la proporción de moléculas no ionizadas por aproximadamente 97 %. La carga neutral neta y la alta solubilidad de gosipol en solventes lípidos podría dirigirse para causar al gosipol ser excretado extensamente en la bilis. También parece que estos 2 factores favorecen la excreción urinaria

de gosipol.

El pequeño valor de la relación de gosipolibre a ligado en la bilis indica que la mayoría del gosipol en la bilis está en alguna forma conjugada. Ya que el gosipol combinado con pequeños péptidos analizados como gosipol libre es más probable que éste no sea la forma de gosipol en la bilis. Es posible especular porqué el gosipol con sus grupos anión polar y alto peso molecular es principalmente excretado por las heces.

Schaible en 1970 y posteriormente en 1976 (43), menciona que sustancias presentes en la pasta de algodón producen coloración blanco rosada, causa de lo cual el autor ha mostrado ser una reacción de la conalbúmina de la clara de huevo con hierro difundido de la yema. La entidad química primaria responsable para la clara rosada es un anillo ciclopropenoide. La intensidad de la clara rosa es gobernada por factores como la longitud del período de alimentación, temperatura de almacenamiento y cantidad de ciclopropenoide ingerido. Un efecto acompañante es el incremento de ácido esteárico y niveles disminuídos de ácido oléico en yemas de huevo. La coloración rosa de la clara está acompañada generalmente con agrandamiento de yemas color salmón. El autor encontró que esto es debido a la migración de conalbúmina dentro de la yema debido a relajación de la membrana vitelina, aquí es combinada con el hierro de la yema para producir un color rosa salmón (35). Hay también una reducción en la ingestión de alimento y una cesación en la producción de huevo (43). La causa de coloración en el contenido del huevo es debido a una incrementada permeabilidad de la membrana vitelina, la cual rodea la yema, causado esto por los ácidos málvico y estercúlico, los cuales se encuentran en el aceite de algodón en la proporción de 2:1. La membrana relajada causa un incremento gradual en el pH de la yema acercándose al de la clara. En la yema un incremento en el contenido de agua y una disminución en amonía, hierro y grasa ocurre. El color rosa de la clara de huevo, resulta de la difusión del hierro de

la yema y reacciona con conalbúmina, una fracción de la proteína de la clara para producir un complejo con un color rosa característico. Es posible para determinar si los huevos son de gallinas alimentadas con harinolina, mediante exposición de huevos frescos con amoníaco, esto hace que surja inmediatamente la coloración anormal del gosipol en la yema (24, 31, 52).

#### 4.4 Hallazgos Patológicos Macroscópicos.

En lo referente a la gallina de postura, los hallazgos patológicos macroscópicos se pueden considerar los mismos que ocurren en el pollo de engorda (véase págs. 70-72).

#### 4.5 Métodos para Detoxificar la Harinolina y mejorar su Calidad y Aprovechamiento en Dietas de Aves.

Como se mencionó en la sección de pollo de engorda, ya desde 1933 Schaible menciona que la presencia de gosipol en dietas para aves pueden ser mejoradas por la adición de sales de hierro, las cuales sirven para ligar el gosipol y hacerlo biológicamente inactivo. En 1934 indicó que la adición de sulfato ferroso protegió contra la coloración anormal de los huevos en raciones conteniendo niveles altos hasta de 40 % de harinolina (35,56) con la suplementación de dietas con 4 partes de hierro en forma de su sal sulfato por cada parte de gosipol libre. Se describió una prueba con amoníaco para determinar los huevos que podrían ser de anormal futuro en almacenamiento exponiendo al contenido de los huevos en una caja de Petri en un desecador en atmósfera de amoníaco y desarrollándose cambios en el color en aproximadamente 30 min. (43).

Swensen et. al. en 1942 concluyeron de su estudio, que la adición de 0.5 % de cloruro férrico a raciones conteniendo 30% de harinolina, prevenía la absorción de gosipol por las gallinas y la formación de yemas oliva en los huevos almacenados, estas sales de hierro "paralizan" el gosipol (35, 43, 56).

Card en 1952, estableció que 0.5 % de cloruro férrico o sulfato ferroso, se combinan con el gosipol y previenen su absorción del tracto gastrointestinal, pero' sin esta precaución no más de 5 % de harinolina podría ser empleada en gallinas de postura, si se quería evitar coloración anormal de la yema (43,56).

Fletcher en 1953, mostró mayor % de huevos normales cuando a la ración conteniendo no más de 10 % o más harinolina, se le adicionaba 0.5 % de sulfato ferroso (35).

Heywang en 1955, dió guías para el uso de harinolina en raciones de postura: a) Harinolinas por pre prensa solvente o con solvente directo bajas en grasa causaron menor anomalía de los huevos que harinolinas altas en grasa, no obstante proporcionaron el mismo nivel de gosipol libre a la ración. b) El grado o incidencia tanto de coloración oliva de la yema como de coloración rosada de la clara se incrementa conforme aumenta el tiempo de almacenamiento, c) Harinolinas que producen un alto nivel de decoloración rosa de la clara, en general también causan mayor coloración oliva de la yema y d) que la decoloración oliva de la yema no siempre está relacionada al contenido de gosipol libre de la ración (35).

Heywang en 1957, indicó que 0.5 % de sulfato ferroso adicionado a raciones conteniendo harinolinas, redujo pero no previno la coloración oliva de la yema. La alta incidencia de claras rosadas encontrada en algunos experimentos realizados, indicó la presencia de alto contenido de grasa en las harinolinas (35).

Phelps en 1964 y Kemmerer en 1965, obtuvieron un buen resultado con 15 % de harinolinas en gallinas de postura en la alimentación adicionando sulfato ferroso (30).

En 1966, en la conferencia sobre inactivación del gosipol, el grupo de fabricantes de alimento, recomendó para galli -

nas de postura 4 partes de hierro para una parte del gosisol en el total de la ración, en dietas con 400 ppm de gosisol libre y un máximo de 1600 ppm de hierro ( 24 ), y no más de 0.1 % de lípidos de pasta de algodón en las raciones. El panel de nutriólogos mencionó que el efecto de gosisol sobre el daño a los huevos es el indicador biológico más sensible de la actividad de gosisol, pero concluyeron que el hierro en una forma de sal útil, puede ser completamente efectivo en prevenir el daño a los huevos causados por gosisol y establecieron: "Los estados y formas de gosisol en las harinólinas no son suficientemente bien entendidas para proporcionar una base cuantitativa para establecer la cantidad de hierro necesario para la inactivación de gosisol". En ese tiempo la base del uso de hierro fue grandemente empírico (24).

Zimmerman en 1966, observó que una proporción entre hierro y gosisol de 2:1 resultó en una inactivación suficiente de gosisol para permitir la producción de huevos vendibles  frescos. Sin embargo, después de 6 meses de almacenamiento una proporción de 4:1 fue necesaria para inactivar completamente el gosisol de la dieta (56).

Braham 1967, Bressani 1964 y Jarquin en 1966, mostraron que la adición de hierro en presencia de componentes de calcio, especialmente hidróxido de calcio, reduce a bajos niveles la concentración de gosisol libre sin ningún cambio en la lisina disponible, a pesar del efecto bien conocido del gosisol sobre la reducción de la lisina disponible por reacción de sus grupos E-amino en presencia del calor. La efectividad del hidróxido de calcio parece estar relacionada a su alcalinidad (26).

Smith y Clawson (1970), Jonassen en 1955 y Smith en 1970, mostraron que la adición de sales ferrosas para raciones de animales monogástricos conteniendo harinolina, reduce la toxicidad del gosisol variando en diferentes grados (26).

Schaible en 1970 (43), menciona que la presencia de cloruro férrico inhibe la absorción de gosipol por las gallinas. El mecanismo de inhibición no se explica pero probablemente se debe a una disminución de la solubilidad en los intestinos de los compuestos hierro-gosipol, al compararse como gosipol libre y recomienda una cantidad de 0.50 % de cloruro férrico, cuando se emplea menos del 30 % de harinolina (43).

Scott (44) en 1971, menciona también que las sales ferrosas reaccionan con gosipol en una proporción molar de 1:1 formando un complejo hierro-gosipol previniendo grandemente la coloración verde oliva de la yema, observándose que esta adición no previene la coloración rosa de la clara producida por los ácidos grasos ciclopropenoides presentes en la harinolina.

Waldroup y Goodner (1973) y Schaible en 1934, obtuvieron valores en los cuales niveles de la dieta mayores de 50 ppm produjeron un incremento en el número defectuoso de yemas color oliva. La adición de sulfato ferroso, hierro:gosipol 4:1 y 8:1 fue claramente efectivo en eliminar el número de huevos defectuoso con niveles de 100 ppm de gosipol libre, pero menos efectivo con mayores niveles (43).

En 1981, Waldroup (52) recomienda la relación de 4 partes de hierro por una parte de gosipol libre, y Liener (24) sugiere que la adición de hierro sea en base a sulfato ferroso en raciones de gallinas de postura.

Cullison en 1981 (12), menciona que sales ferrosas reaccionan con el gosipol en una proporción molar 1:1 formando un complejo hierro-gosipol que disminuye notablemente la toxicidad del gosipol e impide en gran parte la coloración verdosa de la yema en huevos almacenados; sin embargo, no impide la coloración rosa de los huevos producida por los ácidos ciclopropenoides presentes en la pasta de algodón. El gosipol disminuye la energía

metabolizable, y ella se impide también mediante la adición de sales ferrosas en la ración para que reaccione con el gosipol presente en la pasta de algodón. Recomienda el uso de harinolina con bajo contenido de grasa residual, para impedir la coloración rosa de la clara de huevo. El gosipol puede ser eliminado de las glándulas pigmentantes extrayendo la harinolina con una mezcla azeotrópica de hexano acetona y agua 44:53:51, pero este procedimiento no es de uso comercial.

Se han realizado varios estudios mostrando diferentes métodos para producir harinolinas libres de ácidos grasos ciclopropenoides ya sea inactivando o eliminando dichos compuestos (35), al igual que su inactivación en el aceite extraído de algodón (52).

#### 4.6 Cantidades Toleradas de Gosipol.

Se ha encontrado que niveles de 0.03 % o más bajos de gosipol libre y nivel AGU de 0.3 o menos en harinolinas procesadas o tratadas previamente, pueden ser incluidas en raciones de gallinas de postura en un nivel de 5 a 10 % de la dieta (35, 43). Waldroup en 1981 (52), menciona que las ponedoras pueden tolerar niveles hasta de 50 ppm de gosipol libre sin efectos adversos y sugiere la revisión de la harinolina para su uso actual, tomando como límite superior 40 ppm de gosipol libre. Igualmente niveles en la dieta de gosipol libre de menos de 40 ppm para ponedoras puede no requerir suplementación de hierro.

La Asociación Nacional de Productores de Pasta de Algodón de los Estados Unidos, en 1982, publicó las siguientes cantidades: a) 50 ppm (0.005 %) de gosipol libre en la dieta, no causará coloración de los huevos almacenados por más de 3 meses. La tolerancia se puede incrementar a 150 ppm (0.015 %) por la adición de  $Fe SO_4$  (sal de hierro) en relación a peso de 4 partes de hierro a una parte de gosipol y b) restricción de lípidos de al-

godón a no más de 0.2 % ayudan a evitar coloración anormal de los huevos (32).

## 5.0 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

1. A lo largo de esta revisión se ha hecho referencia a la importancia de considerar a la harinolina como fuente útil de proteína en nuestro país, ya que en México se producen grandes cantidades de algodón. Sin embargo, para su utilización óptima como fuente de proteína se requiere conocer el tipo de semilla que se somete a procesamiento ( con o sin glándulas, con o sin corteza, etc). También conocer el tipo de procesamiento utilizado durante su extracción, tomando en cuenta que el método por solventes ha sido el que produce menor deterioro a la calidad de la proteína y menor contenido de gossipol; seguido por el método pre prensa solvente y al final por el de prensa de tornillos.
2. Para el control de la calidad se requieren llevar a cabo análisis de la harinolina antes de su utilización en dietas para aves, tomando en cuenta que la gallina de postura es más susceptible a los efectos tóxicos de gossipol y a los ácidos grasos cicloprope - noides que el pollo de engorda. Por tanto es preciso analizar además de su análisis proximal, su contenido en gossipol libre, lisina disponible y la solubilidad de las proteínas.
3. Su empleo en las dietas de aves requiere suplementar la deficiencia del aminoácido lisina de la harinolina con otras fuentes ricas, como harina de pescado o con el aminoácido en forma sintética.

4. Para el empleo de niveles elevados de harinolina es necesario quelatar el gosipol y se recomiendan las sales de hierro como sulfato ferroso para este objetivo como medio útil para contrarrestar los efectos tóxicos de éste, adicionando una proporción de 4:1 hierro a gosipol.
  
5. Desde el punto de vista práctico, es conveniente limitar los niveles de harinolina en dietas para aves. En el caso de dietas para gallinas, no exceder de 50 ppm ( 0.005 % ) de gosipol libre en la dieta, esto no causará cambio en la coloración de la yema con el almacenamiento. Es evidente que se puede incrementar la tolerancia a 150 ppm ( 0.015 % ) adicionando sulfato ferroso en una proporción de 4 partes de hierro por una parte de gosipol, en aves de postura.

Para el caso de dietas de pollos de engorda y que estos no se vean afectados en su crecimiento se recomienda un nivel de 150 ppm ( 0.015 % ) de gosipol libre en la ración. Pudiéndose incrementar la tolerancia hasta 400 ppm ( 0.04 % ) adicionando sulfato ferroso en una relación de 1:1.

LITERATURA CITADA

1. ABOU-DONIA, M.V. and DIECKERT, J.W.: Gossypol: Uncoupling of respiratory chain and oxidative phosphorylation. Life Sciences., 14 : 1955 - 1963 (1974)
2. ABOU-DONIA. and LYMAN, C.M.: Metabolic fate of gossypol. The metabolism of gossypol - C in laying hens. Toxicology and Applied Pharmacology., 17: 160-173 (1970)
3. BACHTOLD, G.E.: Economía y Administración Avícola. Fac. Med. Vet. y Zoot. Sistema de Universidad Abierta. Méx. (1978).
4. BRANCKAERT, R. et VALLERAND, F.: Utilization du torteau de coton dans L'alimentation animale. Zootechnia., 17:42-50 (1968)
5. BRESSANI, R., ELIAS, L., and PORRAS, A.: Effect of pH on the free and total gossypol and nutritive value of cottonseed and protein concentrate. Archivos Latinoamericanos de Nutrición., 11 Pt 4: 367-379 (1969)
6. BRESSANI, R.: Harina de torta de semilla de algodón en la alimentación de cerdos. Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP) Guatemala Seminario sobre sistemas de producción porcina en América Latina. (1972)
7. BUITRAGO, J., JIMENEZ., I., y OBANDO, H.: Utilización de torta (harina) de algodón en alimentación de cerdos. Instituto Colombiano Agropecuario ICA., Serie ES - 25 abril (1977)
8. CANACINTRA.: La industria alimenticia animal en México. México. (1981)

9. COLEGIO DE INGENIEROS AGRONOMOS DE MEXICO.: Diagnóstico general del sistema de algodón en el estado de Baja California Norte. Ingeniería Agronómica., Año II: (23) 38-51 Abril (1982)
10. COUCH, J.R., CHANG, W.Y., and LYMAN, C.M.: The effect of free gossypol on chick growth. Poultry Science., 34 (1): 178-183 (1955)
11. CUCA, M.G., y AVILA, G.E.: Fuentes de energía y proteínas para la alimentación de las aves. Ciencia Veterinaria U.N.A.M. Tomo 2 : 326-352 (1978)
12. CULLISON, A.E.: Feeds and Feeding. Second Edition Prentice Hall, Inc. Englewood. Cliffs, New Jersey: (1980)
13. DARWISH, A.M.: Effect of different levels of iron protein and calcium on growing chicks fed 25 percent decorticated cottonseed cake in their rations. Acta Agron Acad Sci Hung., 23 (1-3): 151-160 (1974)
14. DAVENPORT, R.F., Mc KNIGHT, W.F., and WATTS, A.B.: Evaluation of cottonseed meals in broiler rations. Abstracts and Papers Presented at the 58 th Annual Meeting of the Poultry Science. Vol. 48 (2): (1969)
15. EL-NOCKRASHY, A.S., FIAD, S., and GAD, A.M.: Degossypolization of cottonseed meal. II Chemical and nutritional evaluations of hydraulic pressed meal. Grasas y Aceites., 43(5): 359-362 (1972)
16. DIRECCION GENERAL DE ECONOMIA AGRICOLA. Información preliminar (1980)
17. FAO.: Anuario FAO de Producción. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Colección FAO. Vol. 31 (1977).

18. FLORES, J.A.: Pastas oleaginosas. Bromatología Animal. 2a. Edición. Ed. Limusa (1980)
19. HOFSTAD, M.S.: Diseases of Poultry. Seventh Edition. Iowa State University Press/ Ames Iowa. U.S.A. p 919 (1978)
20. HUMPHREYS, D.J.: Poisoning in Poultry. Department of Physiology and Chemistry. The Royal Vet College (World's Poultry Science Journal; 35., 35 (3): (1979)
21. KEITH, J.S.: Nutrient composition of cottonseed meal. Feedstuffs. Special Cottonseed Products Report. 42 (16) 18 p 19 (1970)
22. KINGSBURY, J.M.: Poisonous plants of the United States and Canada. Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs, New Jersey: p 59, 175, 180 (1964)
23. LESLIE, E.C.: Poultry Production. Eleventh Edition (1972) Lea & Febiger Philadelphia.
24. LIENER, I.E.: Gossypol. Toxic constituents of plant foodstuffs. Second Edition. Academic Press New York (1981)
25. LIPSTEIN, B., and BORNSTEIN, S.: The effect of dietary iron on gossypol derived from cottonseed oil soapstock. Gossypol and Ferrous Sulfate in Chick Diets. Feedstuffs., 44 (2): 32,33, 41 (1972)
26. MAYORGA, H., and GONZALEZ, J.: Preparation of a low free gossypol cottonseed flour by dry and continuous processing. Journal of Food Science., 40., 1270-1274 (1975)

27. Mc KNIGHT, W.F., and WATTS, A.B.: Inactivation of gossypol by iron. Abstracts and Papers, Presented at the 58 th. Annual Meeting of the Poultry Sciences Association-Poultry Science., 48 Pte II (1969)
28. MOHAMED, B., ABOU-DONIA., and DIECKERT, J.W.: Gossypol: Uncoupling of respiratory chain and oxidative phosphorylation. Life Sciences., 14: 1955-1963 (1975)
29. NARAIN, R., LYMAN, C.W., DEYOE., and COUCH, J.R.: Effect of protein level of the diet on free gossypol tolerance in chicks. Poultry Science., 39(6): 1556-1559 (1960)
30. NARAIN, R., LYMAN, C., and COUCH, J.R.: High levels of free gossypol in hen diets. Effects on body weight, feed consumption and egg production. Poultry Science 36(6): 1351-1354 (1957)
31. NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES.: Toxicants occurring naturally in foods. Washington D.C., Committee on Food Protection and Nutrition Board. National Research Council (1973)
32. NATIONAL COTTONSEED PRODUCTS ASSOCIATION INC.: Cottonseed meal. Computer programming data (1982)
33. NATIONAL COTTONSEED PRODUCTS ASSOCIATION.: The chemistry of gossypol. Proceedings of the conference on the chemical structure and reactions of gossypol and nongossypol pigments of cottonseed. National Cottonseed Products Association, Inc. Dallas Texas. (1959).
34. PEREZ BURIEL, J., and WATTS, A.B.: Avances sobre la inactivación del gossypol en la harina de algodón. Agronomía Tropical Venezuela Zootecnia., 23(3): 323-331 (1973)

35. PHELPS, R.A.: Cottonseed meal for poultry: from research to practical application. World's Poultry Science Journal., 22(2): 86-112 (1966)
36. POND, W.G., and MANER, J.H.: Swine production in temperate and tropical environments. W.H. Freeman and Company San Francisco., 329-336,383,423,450 (1974)
37. QUISENBERRY, J.H., and GONZALEZ, A.D.: Glandless cottonseed meal for laying hen diets. Abstracts of Papers Presented at the 59 th. Annual Meeting of the Poultry Science Association. Poultry Science., 49, 1429 (1970)
38. RADELEFF, R.D.: Veterinary Toxicology. Second Edition. Lea and Febiger. Philadelphia (1970)
39. RIGDON, R.H., CRASS. G., FERGUSON, T.M., and COUCH, J.R.: Effects of gossypol in young chickens with the production of a ceroid-like pigment. AMA Archives of Pathology., 65: 228-235 February (1958)
40. RIGDON, M.D., FERGUSON , T.M., MOHAN, M.S., and COUCH, J.R.: In vivo production of a ceroid like pigment in chickens given gossypol. AMA Archives of Pathology., 67: 94-101 (1959)
41. ROBLES, S.R.: Producción de Oleaginosas y Textiles. Ed. Limusa Méx. 2: 165-283, 654 (1980)
42. ROJAS, S.W., and SCOTT, M.L.: Factors affecting the nutritive value of cottonseed meal as a protein source in chick diets. Poultry Science., 48: 918-835 (1969)
43. SCHAIBLE, P.J.: Poultry: Feeds and Nutrition. Second Edition. The Avi Publishing Company I.N.C. U.S.A. (1976)

44. SCOTT, M.L., NEISHEIM, M.C., and YOUNG, R.J.: Nutrition of the chicken. Second Edition. M.L. Scott Associates Publishers: 332-422 (1976)
45. SECRETARIA DE AGRICULTURA Y RECURSOS HIDRAULICOS. DIRECCION GENERAL DE ASUNTOS ALGODONEROS.: Zonas algodoneras en la República Mexicana., Reporte No. II, Mayo (1982)
46. SHARMA, N.R., LODHI, G.N., and ICHHOPONANI.: Comparative feeding value of expeller- processed undecorticated and decorticated cottonseed cakes for growing chicks. Journal of Agricultural Science Camb., 91: 531-541 (1978)
47. SMITH, K.J.: Nutrient composition of Cottonseed Meal. Feedstuffs., 42(16): 1- 2 (1970) April, Special Cottonseed Products Report
48. TERRONES, L.J., y TERRONES, L. J.L.: Aspectos tecnológicos y Económicos de la Industria Aceitera Mexicana. Presentado ante la VIII Convención Nacional del Instituto Mexicano de Ingenieros Químicos. Guad. Jal Mayo (1968)
49. TITUS, H.W.: The Scientific feeding of chickens. Revision of Second Edition. The enterstate danville, Illinois (1955)
50. VOHRA, P., HAFEZ, Y. and LESLIE, E.: The effect of ammonia treatment of cottonseed meal on its gossypol-induced discoloration of egg yolks. Poultry Science., 54: 441-447 (1975)
51. WALDROUP, P.W., HAZEN, K.R., and MITCHEL, J.: Ammoniated cottonseed meal as a protein supplement for laying hens. Poultry Science., 55(3): 1011-1019 (1976)

52. WALDROUP, P.W.: Cottonseed meal in poultry diets. Feedstuffs., 53(52): 21-24 (1981)
53. WALDROUP, P.W., TOLLET, V.E., and BOWEN, T.E.: Evaluation of cottonseed soapstocks in broiler diets. Poultry Science 47(5): 1731 (1968)
54. WALDROUP, P.W., and TOLLET, V.E.: The acceptability of Acidulated Cottonseed Soapstock as a Energy Supplement for Broiler Diets. Poultry Science., 51: 1907-1914 (1972)
55. WALDROUP, P.W., KEYSER, E.G., and TOLLET, V.E.: The evaluation of a low gossypol glandless cottonseed meal in broiler diets. Poultry Science., 47(4): 1179-1186 (1968)
56. WALDROUP, P.W., and GOODNER, T.O.: Tolerance levels of free gossypol in layer diets as influenced by iron : Gossypol rations. Poultry Science., 52: 20-28 (1973)
57. WALDROUP, P.W., GOODNER, T.O., and SLOAN, D.R.: Use of cottonseed meal in diets for commercial egg production. Feedstuffs. 42(16): 2-4 (1970)
58. WATTS, A.B.: Use of cottonseed meal in rations for young chickens. Feedstuffs., 42(16): 5-6 (1970)
59. WEDEGAERTNER, T.C.: Making the most of cottonseed meal. Feed Management Magazine. National Cottonseed Products Association. 32(9): 1-3 (1981)