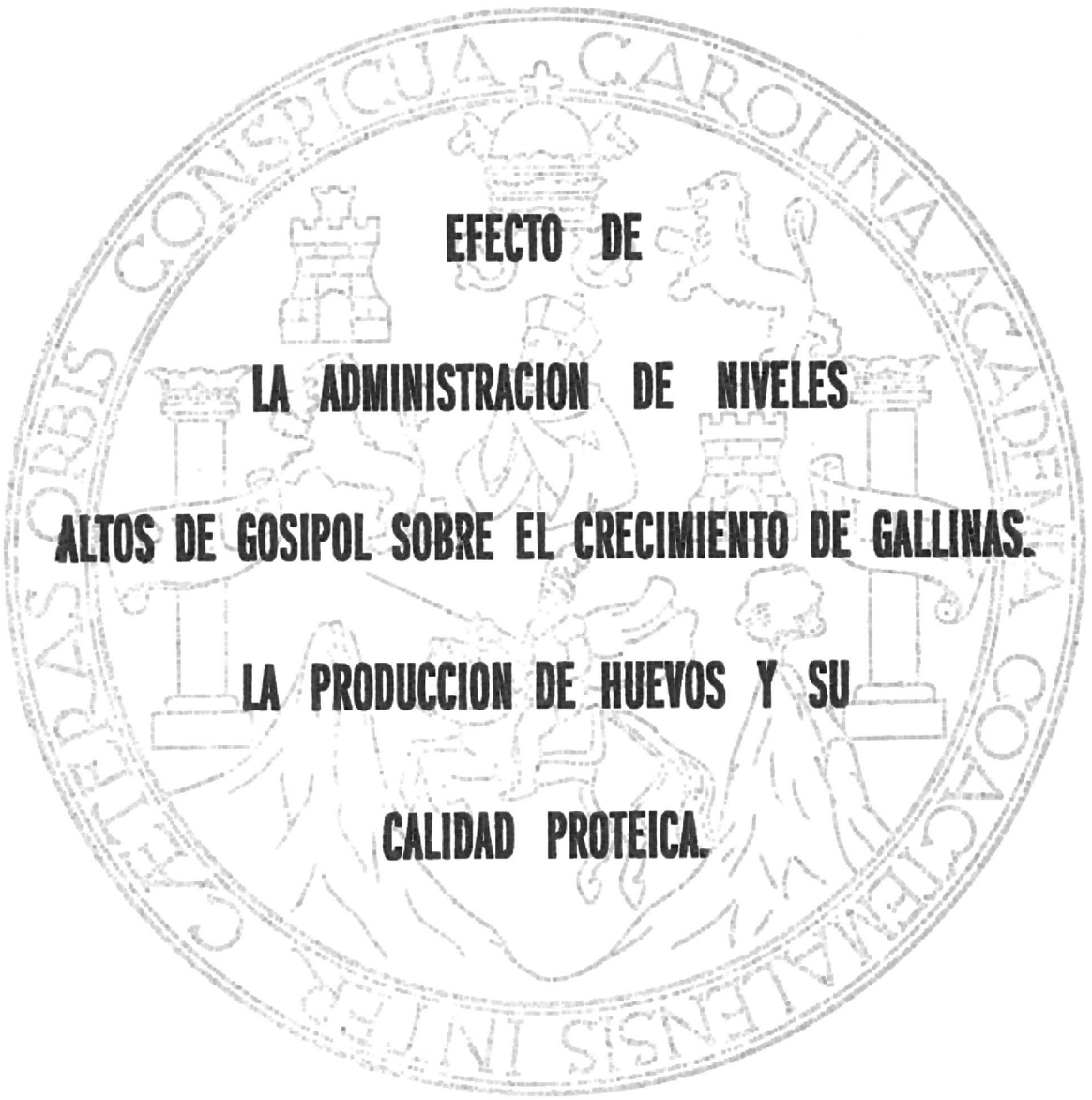
Myrna Ligia Aguirre de Aguilar



EFECTO DE LA ADMINISTRACION DE NIVELES ALTOS DE GOSIPOL SOBRE EL CRECIMIENTO DE GALLINAS. LA PRODUCCION DE HUEVOS Y SU CALIDAD PROTEICA.

Guatemala, C. A. mayo de 1968

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

EFECTO DE LA ADMINISTRACION DE NIVELES ALTOS DE GOSIPOL SOBRE EL CRECIMIENTO DE GALLINAS, LA PRODUCCION DE HUEVOS Y SU CALIDAD PROTEICA

Tesis

Presentada a la Junta Directiva de la Facultad
de Ciencias Químicas y Farmacia de la
Universidad de San Carlos de Guatemala

Por

MYRNA LIGIA AGUIRRE DE AGUILAR

en el acto de su investidura como

QUIMICO FARMACEUTICO

Guatemala, C. A.
mayo de 1968.

JUNTA DIRECTIVA

DE LA

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

DE LA

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

Decano	Lic. Rafael Letona Romero
Vocal 1o.	Dr. Arturo Mendizábal
Vocal 2o.	Licda. Sara B. de Monzón
Vocal 3o.	Lic. Mario Dary R.
Vocal 4o.	Br. Rogelio Echeverría
Vocal 5o.	Br. Hugo Ramiro Arriaga
Secretaria	Licda. Rosario Arango de Carrillo

TRIBUNAL QUE PRACTICO EL

EXAMEN GENERAL PRIVADO

Decano	Lic. Rafael Letona Romero
Vocal de la Junta Directiva	Lic. Mario Dary R.
Examinador	Lic. Fernando Mejía
Examinador	Licda. Sara B. de Monzón
Secretaria	Licda. Rosario A. de Carrillo

TESIS QUE DEDICO:

A la Universidad de San Carlos de Guatemala

A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

Al Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá

A mis Maestros.

ACTO QUE DEDICO:

A mis padres:

Daniel Antonio Aguirre Sandoval

Angelina Palma de Aguirre

A mi esposo:

José Víctor Aguilar de Paz

A mis hijos:

Víctor Daniel y Myrna Ligia

A mi hermana:

Aura Angelina Aguirre P.

A mi madre política:

Isabel de Paz Estrada

A mis amigos.

A mis compañeros.

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR:

Presento a vuestra consideración el presente trabajo de Tesis, como una pequeña contribución en la ardua lucha por el mejoramiento del nivel nutricional de nuestra Patria.

El presente trabajo se llevó a cabo en los Laboratorios de la División de Ciencias Agrícolas y de Alimentos del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP) y en su Estación Experimental «SAN ANTONIO PACHALI», San Raymundo Sacatepéquez, bajo la dirección del Dr. Ricardo Bressani, Jefe de la División y del Dr. J. Edgar Braham, Jefe Asistente de la misma.

PLAN DE TESIS

		Página No.
I.	INTRODUCCION	1
II.	REVISION DE LA LITERATURA	3
	A. Harina de Semilla de Algodón	3
	B. Gosipol	6
	C. Coloración de los Huevos de Gallinas Alimentadas con Harina de Semilla de Algodón	10
	D. Medios de Prevenir la Coloración Anormal de los Huevos	14
	E. Otros Efectos de la Alimentación de Gallinas Ponedoras con Harina de Semilla de Algodón	16
III.	MATERIALES Y METODOS	18
	A. Materiales	18
	B. Análisis Químicos	18
	C. Ensayos Biológicos	19
	D. Determinaciones en Material Biológico	21
IV.	RESULTADOS	23
	A. Análisis de las Raciones	23
	B. Ensayos Biológicos	23
	C. Determinaciones en Material Biológico	26
V.	DISCUSION	29
VI.	RESUMEN	33
VII.	RECONOCIMIENTOS	35
VIII.	BIBLIOGRAFIA	37

I. INTRODUCCION

Uno de los problemas de mayor importancia que confrontan los organismos responsables de la nutrición en el mundo, es la desproporción existente entre el rápido crecimiento de la población y la disponibilidad de alimentos. Este problema, aunque real, es de menor magnitud en las regiones del globo que, en comparación con aquellas consideradas aún en vías de desarrollo, han alcanzado un alto nivel de tecnología industrial y agrícola. Un enfoque a largo plazo de tal problema exige fundamentalmente, dos medidas orientadas a solucionarlo: a) la búsqueda de nuevas fuentes de alimentos, y b) la utilización más eficiente de aquellas con las que ya se cuenta en la actualidad, con miras a contrarrestar la desproporción antes citada, que cada día es más evidente.

En nuestros países, una de las causas del bajo consumo de proteínas de origen animal por parte de las poblaciones, es, sin lugar a dudas, de orden económico. El alto precio de concentrados para la crianza de animales contribuye en gran medida a aumentar el precio de los productos alimenticios derivados de éstos, haciéndolos así prohibitivos para grandes sectores de la población.

Uno de los subproductos industriales de perspectivas más halagadoras a utilizar en la elaboración de concentrados para animales, particularmente para aves, es la harina de semilla de algodón.

El bajo precio de este producto comparado con el de otras materias primas usadas en la actualidad, juntamente con su disponibilidad en el área centroamericana, y su valor nutritivo no del todo desfavorable, son las características principales que impulsaron la realización del presente estudio. El motivo de la utilización reducida de la harina de semilla de algodón para la alimentación de gallinas productoras, se debe a ciertos problemas de orden nutricional. Uno de ellos es el bajo contenido de lisina disponible, lo cual puede corregirse, sin embargo, mediante su suplementación con ese aminoácido o bien con proteínas que son ricas en él. El segundo problema y posiblemente el más difícil de resolver, es el hecho de que la mayor parte de harinas de semilla de algodón contienen gosipol, pigmento que no sólo es tóxico cuando se ingiere en altas cantidades, sino que también se deposita en el huevo ocasionando cambios poco deseables en su coloración. No obstante, se ha informado que ciertos iones como los del calcio y hierro, reducen la acción del gosipol, por lo menos en el cerdo, y que los ácidos grasos

residuales son responsables en parte de la coloración del huevo. El uso de solventes para extraer el aceite, reduce significativamente la presencia de ácidos grasos residuales.

Los propósitos del presente trabajo fueron, por consiguiente, estudiar el efecto de niveles altos de gosipol, como única variable, tanto en pollas en proceso de crecimiento, como en gallinas ponedoras, y determinar el efecto de los iones de calcio y hierro como reductores de la acción del gosipol.

II. REVISION DE LA LITERATURA

A. *Harina de Semilla de Algodón*

En los últimos años la harina de semilla de algodón ha sido objeto de numerosas investigaciones con el fin de utilizarla más ampliamente en la alimentación humana (1), así como en la elaboración de concentrados para aves (2) y otros animales monogástricos (3), ya que su uso se había centralizado en la alimentación de rumiantes.

La razón que ha limitado su utilización en raciones para aves y otros animales no rumiantes, se debe a una serie de factores, principalmente a la presencia de ciertos pigmentos en la semilla de algodón, entre ellos el gosipol, cuyos efectos adversos han sido estudiados por varios investigadores.

1. *Composición química*

La composición química de las harinas de semilla de algodón varía según el proceso utilizado para la extracción del aceite (4), la variedad de la semilla, la época de cultivo, las lluvias, etc.

En el caso del material usado en el presente trabajo, que fue harina preparada por solvente, el contenido de gosipol libre es relativamente alto si se compara con el de las harinas elaboradas por el proceso de prensa o de pre-prensa solvente (4). Asimismo, otros índices usados para la evaluación del valor nutritivo de harinas de semilla de algodón, tales como el contenido de lisina disponible y la solubilidad de nitrógeno en $NaOH_1$ 0.02N, han puesto de manifiesto la mejor calidad de sus proteínas en relación con las harinas sometidas al proceso de prensa o de pre-prensa solvente (4).

La cantidad de grasa es relativamente inferior que cuando se usa el proceso de prensa; además el contenido de proteínas y de fibra cruda puede ser controlado simplemente mediante su tamización

En lo que a los carbohidratos se refiere, la harina de semilla de algodón contiene 5.3% de azúcares totales, 13.2% de pentosas y 9.6% de celulosa (5).

La semilla de algodón se considera como buena fuente de tiamina y de vitamina E. Sin embargo, el contenido de estas vitaminas en la harina depende del tratamiento de la semilla durante el proceso y de la cantidad de aceite residual.

2. *Efecto del procesamiento*

En la actualidad, los procesos utilizados para la extracción del aceite de la semilla de algodón, son tres: el de prensa, que puede ser hidráulica o de tornillo, el de pre-prensa solvente, y el de solvente (5). En la mayoría de los casos el solvente usado es el hexano.

La composición química y el valor nutritivo de las harinas de semilla de algodón son afectados notoriamente por el método que se usa para la extracción del aceite (4, 5).

Desde el punto de vista químico, las harinas obtenidas por el proceso de prensa contienen más grasa y menos humedad, proteína, epsilon-amino lisina y gosipol libre que las harinas preparadas por el método de pre-prensa solvente o de sólo solvente. Por otro lado, el contenido de minerales (4) no es afectado por el proceso, en contraposición a las vitaminas, principalmente la tiamina que, por ser termolábil, refleja en sus valores el método de procesamiento utilizado.

Desde el punto de vista práctico, los objetivos de los procesos de elaboración de la harina de semilla de algodón, son: primero, reducir al máximo su contenido de gosipol libre; segundo, mantener el valor nutritivo de la proteína, ya sea a) a través de una menor reacción entre el gosipol y la lisina, o b) evitando en la medida posible la desnaturalización de las proteínas resultante de las temperaturas usadas durante el procesamiento de la semilla.

Debido a las condiciones de elaboración (23), las harinas de semilla de algodón preparadas por el método de prensa tienen un valor nutritivo más bajo que aquéllas obtenidas por pre-prensa solvente o sólo por solvente. Este valor nutritivo inferior lo confirma la menor solubilidad de sus proteínas en NaOH 0.02N, la cantidad inferior de lisina disponible, y la eficiencia proteica más baja que acusan en contraste con las elaboradas aplicando los otros procesos (4).

3. *Valor nutritivo*

Son varios los factores que pueden afectar la calidad de la proteína de la harina de semilla de algodón, entre éstos el calor aplicado durante el proceso a que se somete la semilla (5). El bajo valor nutritivo que se observa cuando el calor ha sido excesivo, se debe aparentemente a la disminución de aminoácidos disponibles, tales como la lisina, lo que ocurre por favorecerse la reacción de las

proteínas de la semilla de algodón con carbohidratos y gosipol (24-27). En experimentos en los que se usaron cantidades crecientes de gosipol, éste se ligó a la proteína, disminuyendo progresivamente los grupos epsilon-amino libres de la lisina (29). Los valores de pH cercanos a la neutralidad también inducen un descenso en la cantidad de lisina disponible (27).

Varios investigadores han demostrado que las harinas de semilla de algodón presentan deficiencia de lisina y metionina y, algunas veces, de treonina. Con miras a contrarrestar estas deficiencias se han llevado a cabo numerosos estudios. Por ejemplo, se ha logrado demostrar el valor de la suplementación con aminoácidos. En 1946, Grau informó haber obtenido resultados satisfactorios en el crecimiento de pollos con dietas suplementadas con lisina y metionina, mientras que la suplementación con treonina y triptofano, resultó ineficaz (28, 30-34). Muchos otros investigadores han obtenido resultados similares. Anderson, citado por Phelps, notificó en 1965 que la metionina es el segundo aminoácido limitante en la harina de semilla de algodón (3). Los aminoácidos limitantes, en orden descendente y después de la metionina, son: isoleucina, treonina leucina, y posiblemente, valina (3).

Fisher (35) indicó recientemente que en el caso de raciones para pollos y después que la harina de semilla de algodón ha sido suplementada con lisina y metionina, el orden de limitación de sus aminoácidos es: treonina, leucina e insoleucina. Ousterhout *et al.* informaron una excelente disponibilidad del triptofano en la harina de semilla de algodón (36). Por su parte, Patterson y colaboradores encontraron que también es buena fuente de arginina (37). Todos los trabajos a que se alude indican, en general, la necesidad de suplementar las harinas de semilla de algodón con lisina, y posiblemente con otros aminoácidos, para obtener resultados óptimos. Cabe, pues, esperar hallazgos similares en la preparación de raciones para aves si la proteína de la harina de semilla de algodón se complementa con otras fuentes de proteínas ricas en lisina.

Para producir este efecto se han usado varias harinas, entre ellas la de soya y la de pescado. Aun cuando la harina de soya no es una fuente de lisina tan rica como la harina de pescado, por ejemplo, se han notado mejores respuestas en la producción de pollos de carne cuando parte de la harina de semilla de algodón en la ración se substituye por harina de soya (31, 38). Según cita Phelps, Clark y colaboradores encontraron que al utilizar en raciones para pollos, semilla de algodón producida especialmente por extracción con solvente y harina de soya, en partes iguales, los resultados obtenidos

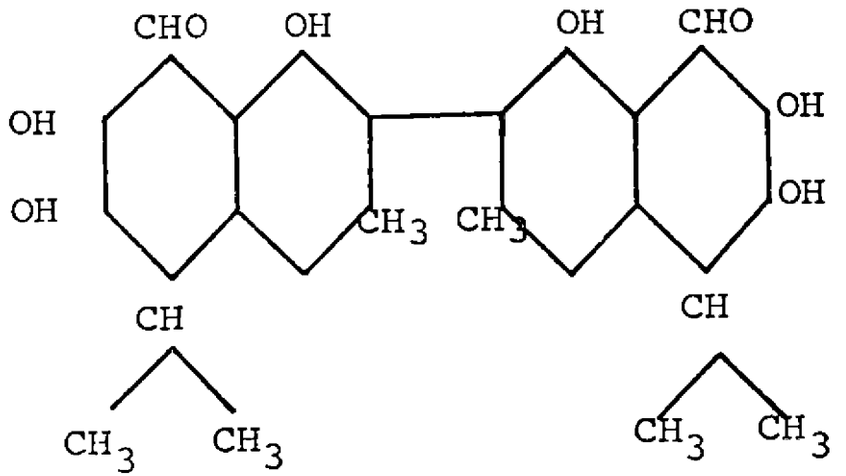
fueron semejantes a los que lograron con raciones a base de sólo harina de soya (3). Milby y colaboradores dan cuenta también de hallazgos semejantes en el caso de raciones para pavos (3).

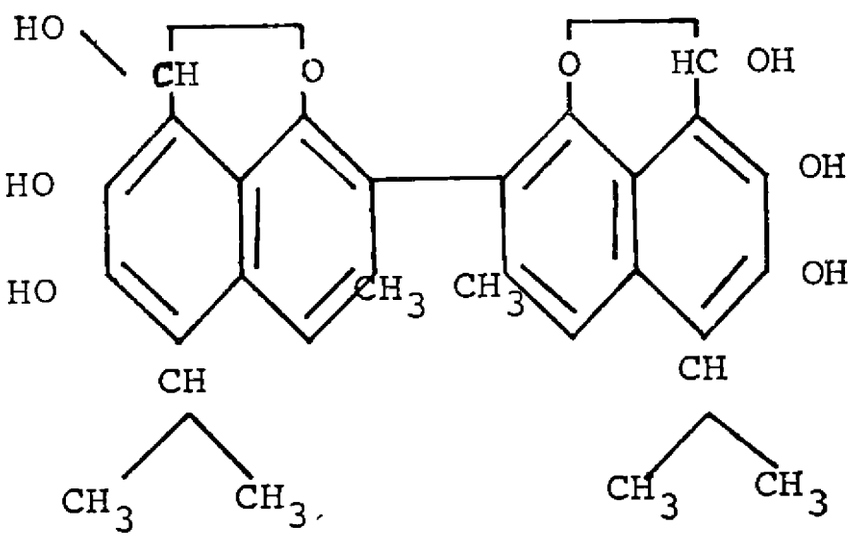
B. *Gosipol*

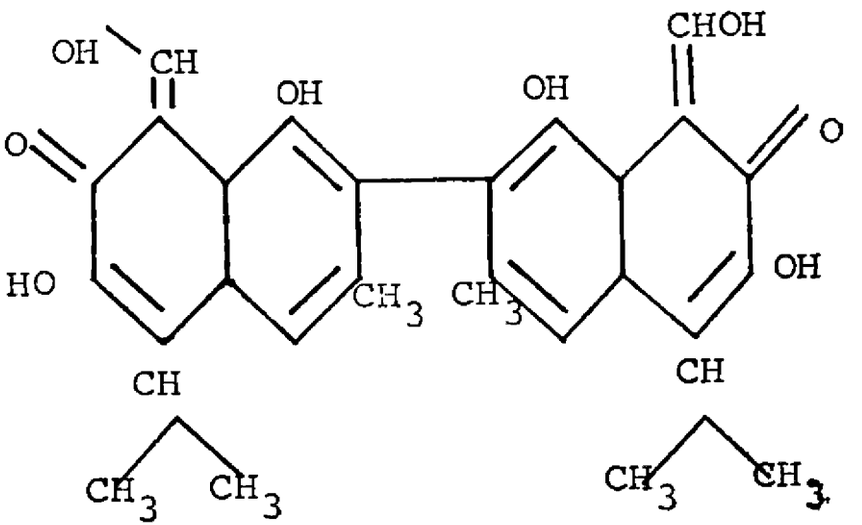
1. *Química*

Voelker y England, en 1859 (citados por Eagle), fueron los primeros en describir el efecto perjudicial de la harina de semilla de algodón (39). En 1886, Longmore aisló un pigmento crudo del residuo insaponificable del aceite, y Marchlewsky (39), en 1899, fue quien lo extrajo, purificó y le dio el nombre de gosipol. Más tarde, en 1915, Withers y Carruth demostraron que el gosipol era la substancia tóxica de la harina de semilla de algodón (39), encontrando también que el gosipol era tóxico para los conejos. Experiencias posteriores corroboraron ese efecto en ratas, cobayos y cerdos (5). Todos estos informes se refieren al gosipol libre, que es la forma de mayor actividad biológica, ya que recientemente se ha demostrado que pequeñas cantidades de gosipol ligado pueden circular en el tracto digestivo (6). El gosipol se encuentra localizado en las glándulas que están distribuidas en la pulpa de la semilla. Estas glándulas se rompen durante el proceso de extracción del aceite, y dejan así en libertad el pigmento (5).

Son muchas las investigaciones efectuadas con el fin de determinar las características químicas, reacciones y estructura del gosipol. Estas culminan con los trabajos del Dr. Roger Adams y colaboradores, citados por Dollear (40), quienes propusieron su estructura química en tres formas tautómeras. Dicha estructura está constituida por dos núcleos de naftaleno con substitución de importantes grupos funcionales, un grupo aldehido y tres grupos hidroxilos en cada mitad de la molécula. Las tres formas tautómeras, por tanto, dan las reacciones típicas para los grupos fenólico y carbonilo, correspondiendo dichas formas a: 1) la forma aldehido; 2) la forma hemiacetal, y 3) la forma cetona. Las fórmulas químicas que las expresan son:


CHO
OH
OH
CHO
OH
OH
OH
OH
CH3
CH3
CH
CH
CH3
CH3
CH3
CH3


HO
CH
O
O
HC
OH
HO
HO
OH
OH
CH3
CH3
CH
CH
CH3
CH3
CH3
CH3


OH
CH
CHOH
OH
OH
O
O
HO
OH
CH3
CH3
CH
CH
CH3
CH3
CH3
CH3

2. *Efectos adversos del gosipol*

Toxicidad en pollos — Se han llevado a cabo varios estudios con el objeto de conocer el efecto del gosipol sobre el crecimiento de pollos. Desde el punto de vista fisiológico parece ser que el gosipol «libre» es la forma biológicamente activa, aunque ciertos autores han indicado la posible acción del gosipol «ligado», el cual, para actuar, tendría que ser liberado en el tracto digestivo (6). En lo que se refiere a los niveles de gosipol que pueden afectar el crecimiento de los pollos y asimismo, causarles mortalidad, los datos encontrados en la literatura son bastante contradictorios. La causa de esta discrepancia reside básicamente en una serie de factores: 1) fuente de gosipol utilizada; 2) cantidad y calidad de la proteína en la dieta; 3) edad y raza de las aves, y 4) presencia en la dieta de ciertas substancias que pueden inactivar total o parcialmente el gosipol.

3. *Fuentes de gosipol utilizadas*

Ciertos autores (1, 7, 8) han encontrado correlación entre los niveles de gosipol en la dieta y la mortalidad en pollos usando como fuente de ese pigmento glándulas de gosipol y gosipol puro; llegan así a la conclusión de que ambas formas tienen el mismo poder de toxicidad. Sin embargo, otros investigadores (9, 10) no sólo no han podido encontrar dicha correlación sino que concluyen que las glándulas de gosipol son más tóxicas que el gosipol puro. Lipstein y Bornstein (11) usando el «soapstock» (subproducto graso derivado del aceite de semilla de algodón) como fuente de gosipol hasta un nivel de 0.10%, no observaron en experimentos en pollos ninguna detención de crecimiento, en contraste con los hallazgos de otros investigadores que utilizaron niveles diferentes (10, 12). Curtin y Raper (13) trataron de explicar estas diferencias sugiriendo que el gosipol en el «soapstock» no es tan tóxico como el gosipol libre que contiene la harina de semilla de algodón. Los trabajos posteriores de Naber y Morgan (14) y de Lipstein y Bornstein (11, 15) parecen confirmar esta observación.

4. *Cantidad y calidad de la proteína en la dieta*

Narain *et al.* (16) dan cuenta de los resultados obtenidos por ellos en lo que respecta al efecto del nivel proteico de la dieta sobre la tolerancia de los pollos a la toxicidad del gosipol. En dichos experimentos los autores usaron tres niveles de proteína en las dietas (17%, 21% y 42%), utilizando como fuente de gosipol las glándulas de la semilla de algodón. Una comparación de experimentos reveló que a todos los niveles de gosipol usados, el mejor crecimiento se obtuvo con 42% de proteína en la dieta, en contraste con los obtenidos con el grupo cuya dieta contenía 21%. A partir de estos hallazgos los autores sugieren que el alza del nivel proteico de la dieta incrementa también la cantidad de lisina disponible y que, al mismo tiempo, parte de la lisina extra se combina con el gosipol, disminuyendo así su efecto depresor sobre el crecimiento. Otros estudios al respecto han sido publicados por Gallup y Reeder (17) y por Hale *et al.* (18). El efecto de la calidad de la proteína sobre la toxicidad del gosipol ha sido también objeto de varias investigaciones. Couch, Chang y Lyman (8), por ejemplo, informan que el agregado de lisina a dietas que contienen gosipol libre aumenta el crecimiento de los pollos. Según los autores, estos hallazgos se explican teniendo en cuenta que la lisina se combina con el gosipol y, por consiguiente, se torna no disponible para los animales. Por otro lado Bornstein y Lipstein (11) usando «soapstock» como fuente de gosipol, estudiaron los niveles de tolerancia de este pigmento en pollos en proceso de crecimiento, y encontraron que el agregado de lisina no tenía ningún efecto benéfico en las dietas que contenían niveles tóxicos de gosipol.

5. *Edad y raza de las aves*

La influencia que la raza de los pollos puede tener sobre la resistencia a la toxicidad del gosipol, se dan a conocer en los trabajos de Heywang y Bird (19), quienes indican que para la raza White Leghorn los niveles de este pigmento no deben exceder de 0.016%, y para la raza New Hampshire de 0.02%.

6. *Presencia en la dieta de ciertas substancias que pueden inactivar total o parcialmente el gosipol*

La presencia de ciertos factores en la dieta puede influir también en el grado de toxicidad del gosipol. Entre las substancias sometidas a ensayo para comprobar este efecto están el hierro y el calcio.

Hierro — Los trabajos *in vitro* llevados a cabo por Jonassen y Demint (20) demostraron que el gosipol se unía al hierro en la proporción de 1:1. Estudios posteriores confirmaron este hecho (68), así como la oxidación del gosipol por este metal. La mayoría de investigaciones biológicas hechas con hierro han sido efectuadas en cerdos (2, 68), ratas y gallinas ponedoras (68). De manera general, parece ser que el mecanismo por el cual el hierro inactiva al gosipol, es que forma con él un complejo, impidiendo así su absorción. En lo concerniente al efecto del hierro sobre el gosipol en dietas para pollos en crecimiento, no se encuentra en la literatura ningún informe.

Calcio — En este caso, se ha encontrado que el tratamiento alcalino de dietas que contengan harina de semilla de algodón, también disminuye los niveles de gosipol. Bressani *et al.* (69) encontraron que la cocción a un pH alcalino, asociada a la presencia de iones de calcio, pero no de sodio, era un factor importante en la disminución del contenido de gosipol libre de la mezcla. Earle y colaboradores, asimismo, dan cuenta de sus estudios sobre el efecto del tratamiento alcalino con el contenido de gosipol (22). Sin embargo, la literarura sobre el tema no incluye estudios referentes a la inactivación del gosipol por medio del calcio, en dietas para pollos.

C. *Coloración de los Huevos de Gallinas Alimentadas con Harina de Semilla de Algodón*

Uno de los efectos atribuidos a la harina de semilla de algodón como fuente de alimentación para gallinas ponedoras, es la coloración anormal que se produce en la clara y en la yema de los huevos. En los informes de muchos trabajos, dicha coloración anormal se considera como efecto del tiempo de almacenaje (3). La gran mayoría de artículos sugieren que el gosipol es el causante de la coloración oscura de la yema, y que otra clase de compuestos que dan resultados positivos a la reacción de Halphen, son los causantes de la coloración rosada de la clara.

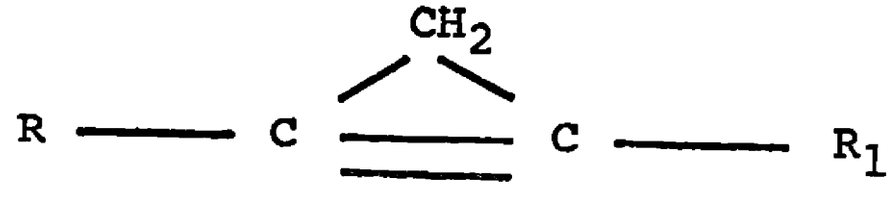
1. *Coloración verde olivo de la yema*

Heywang informa que Roberts y Rice fueron quienes, en 1891, descubrieron la coloración verde olivo de la yema, resultante de la alimentación de las gallinas con harina de semilla de algodón (41). Lamon y Lee, por otro lado, notificaron en 1917 la misma coloración en huevos sometidos a un almacenaje frío, mientras que la propiedad de la harina de semilla del agodón de producir claras rosadas fue descrita por Sherwood en 1931. Ambos acontecimientos son citados por Kemmerer (42). Schaible encontró en 1934, que al alimentar gallinas ponedoras con harina de semilla de algodón corriente, harina de semilla de algodón sometida al autoclave, extracto etéreo de harina de semilla de algodón, aceite de semilla de algodón extraído por prensa en frío o gosipol puro, los huevos se decoloraban en forma natural a la temperatura de almacenamiento de 30° C, o en atmósfera de amoníaco, mientras que las raciones libres de gosipol no produjeron ninguna alteración. Con base con los resultados anteriores dicho investigador concluye que el gosipol es el factor responsable de la coloración verde olivo de la yema (43), Kemmerer (44) afirma que los ácidos grasos ciclopropenoides aumentan esa coloración de la yema debido a que acelera el incremento del pH durante el almacenaje frío de los huevos. Por su parte, Altschul (5) describe las alteraciones de la yema como sigue. Estas pueden ser verde olivo, hasta llegar casi al negro; se encuentran comúnmente moteadas; y en otros casos pueden ser color rojizo; la coloración anormal de la yema suele acompañarse de un tinte rosáceo en la clara; pueden encontrarse también yemas anormalmente alargadas y de consistencia gelatinosa. Este último fenómeno, es decir, la consistencia o textura de la yema de los huevos anormalmente coloreados, ha sido descrita por varios autores como elástica, pastosa, viscosa o gelatinosa. El efecto lo atribuyen al cambio ocurrido durante el almacenaje, siendo más pronunciado cuando los huevos se enfrían primero y después son llevados a la temperatura ambiente (45, 46). Sherwood *et al.*, y Lorenz, Sweenson y colaboradores, en una cita de Altschul (5) indican en numerosos estudios al respecto, que la coloración oliva de la yema se debe a la alimentación con gosipol. Lorenz (5) también opina que la consistencia gelatinosa de la yema es debida también al gosipol. Schaible *et al.* propusieron una prueba para detectar qué huevos sufrirán cambio de coloración con el almacenaje (43), la cual consiste de lo siguiente. Los huevos se abren y se dejan en

atmósfera de amoníaco, aquellos que en corto tiempo tomen color café chocolate son los que sufrirán coloración verde olivo con el almacenaje. Una contribución importante acerca del mecanismo de coloración de la yema, es la de Woronick y Grau, y la de Grau y colaboradores, quienes encontraron que cuando el gosipol se halla en las yemas de huevos almacenados, no está en forma libre, sino formando un complejo gosipol-cefalina (48, 49). Los mismos autores describen un procedimiento para la determinación de gosipol-cefalina en huevos frescos cuyos resultados indicaron que los grupos amino juegan un papel importante en el metabolismo del gosipol en la gallina, durante la época de postura. En el criterio de Kemmerer *et al.* (44, 46), la coloración verde olivo se debe a la combinación del gosipol de la yema con el hierro de la misma. Dechary y otros, presentaron evidencia de que los grupos fenólicos en el gosipol son los factores responsables del fenómeno de esa coloración de la yema (50). Kemmerer y colaboradores (46), por su parte, sugieren la posibilidad de que tal coloración se deba a la formación de un complejo de iones ferrosos y gosipol a un pH alcalino.

2. *Coloración rosada en la clara*

Recientemente se ha logrado comprobar que de todos los compuestos químicamente definidos y biológicamente sometidos a prueba hasta el presente, sólo aquéllos que contienen el radical ciclopropenil causan los efectos notificados en la clara de huevos de gallinas que han ingerido en su alimentación plantas del orden de las malváceas (45). Entre los compuestos asociados a dicho efecto se encuentran dos ácidos grasos a los que se les ha dado los nombres comunes de ácido malválico y ácido estercúlico, y son respectivamente, el ácido 7 (2 octil 1 ciclo-propenil heptanoico) y 8 (2 octil 1 ciclopropenil octanoico). Estos dos ácidos se caracterizan por dar positiva la reacción de Halphen (72). Shenstone y Vickery en 1959 (51), Brooke y Smith, y Nordby *et al.*, citados por Phelps (45), usando síntesis de derivados encontraron que la configuración molecular esencial para la reacción en el test de Halphen es un ciclopropeno substituido, donde R y R1 son pequeñas cadenas



carbonadas. Schaible y sus asociados creen que la coloración rosada de la clara del huevo puede atribuirse a la combinación de la conalbúmina de la clara con el ion ferroso de la yema, el cual se difunde hacia la clara (52-54). Azary y Feeney en 1961 demostraron que el complejo metálico rosado o salmón formado con la conalbúmina, liga dos iones férricos y un ion carbonato por mólecula siendo relativamente resistente a los tratamientos químicos y físicos (55), Thompson *et al.*, en una cita de Phelps, indican que los huevos de gallinas ponedoras alimentadas con gran cantidad de harina de semilla de algodón no presentaron coloración rosada al almacenarse congelados o bien cuando se separaron las claras de las yemas (45). Existen informes de que la coloración anormal de las claras ocurre en huevos almacenados durante largo tiempo, aun cuando las gallinas no hayan recibido harina de semilla de algodón u otra malvácea en su alimentación (45). Esto sugiere la posibidad de considerar dicha coloración, en los huevos de gallinas alimentadas con harina de semilla de algodón, como una manifestación altamente acelerada de los cambios que ocurren en los huevos normales. Phelps (45) resume las condiciones que influyen en la formación de color rosado en los huevos de gallinas que han ingerido compuestos ciclopropenoides, como sigue: a) duración del período de alimentación; b) tiempo de almacenaje de los huevos; c) temperatura del almacén; d) contenido de compuestos ciclopropenoides y lípidos libres de la ración; e) raza y caracteres hereditarios de la gallina ponedora, y f) ausencia de lípidos en la ración. Un efecto biológico importante producido por la ingesta de compuestos ciclopropenoides por gallinas ponedoras, es que los valores del pH —que en huevos normales ordinariamente se mantienen divergentes entre 6.2 y 6.5 para la yema, y 8.6 y 9.2 para la clara, después del almacenaje — bajo la influencia de compuestos ciclopropenoides, tienden a converger durante esa etapa de almacenaje, llegando muchas veces a ser idénticos (45). El mecanismo de esta difusión de iones no está bien determinado. Thompson en 1930, según una cita de Phelps, manifestó que la yema y clara de huevos almacenados provenientes de gallinas alimentadas con harina de semilla de algodón, eran dos unidades de pH más alcalinas que las de huevos frescos de gallinas que consumieron la misma ración. Los huevos de gallinas alimentadas con dietas sin harina de semilla de algodón, no acusaron incremento del pH durante el almacenaje frío (45). Schaible *et al.*, midieron los valores del pH en el centro de la yema, justamente bajo la membrana vitelina de

huevos almacenados provenientes de gallinas que habían ingerido 5% de aceite crudo y 20% de harina de semilla de algodón. Las yemas de los huevos que no exhibían coloración anormal, no presentaron cambios apreciables con respecto a los huevos usados como control, pero el pH en la zona cercana a la membrana vitelina fue ligeramente mayor que en el centro de la yema. Al aumentar el tiempo de almacenaje dicha diferencia se redujo (53). La coloración rosada de la clara, según el mismo autor, se presenta primero en la zona que se halla en contacto directo con la membrana vitelina. Esto hace suponer que esa coloración se produce por una difusión de componentes de la yema hacia la clara. Además de los cambios de pH que acompañan al tinte rosáceo de la clara, se han notificado también las alteraciones siguientes: incremento del agua de la yema, por lo que ésta suele alargarse (51, 58), aparecimiento de proteínas de la clara en la yema (56), y aumento del contenido de Fe y nitrógeno no proteico en la clara (51, 53, 54). Kemmerer *et al.*, en huevos almacenados durante seis meses, no encontraron coloración rosada en la clara cuando las gallinas habían sido alimentadas con raciones que no contenían más de 0.1% de aceite de semilla de algodón. Al nivel de 0.2% los huevos pudieron almacenarse en condiciones satisfactorias durante tres meses, y al nivel de 0.5%, el período de almacenaje se prolongó sólo a dos meses (57).

D. *Medios de Prevenir la Coloración Anormal de los Huevos*

El uso de las sales de hierro para contrarrestar la toxicidad producida por el gosipol se conoce desde las publicaciones de Withers y Brewster en 1913, según una citación de Gallup (63). Ellos usaron sales de hierro considerando que el principio tóxico de la harina de semilla de algodón se encontraba en la molécula proteica, la cual actuaba sobre el hierro sanguíneo. La hipótesis más aceptada en cuanto al mecanismo de acción del hierro, es la de Withers y Carruth, que el mismo Gallup cita, y que dice: «el efecto benéfico del hierro se debe a la formación de una sal férrica insoluble del gosipol o de uno de sus derivados, junto con la aceleración catalítica de la oxidación del gosipol» (63). La protección de las sales de hierro en contra de la coloración anormal de la yema y de la clara, cuando las gallinas han sido alimentadas con harina de semilla de algodón, ha sido muy discutida en los últimos años, encontrándose en la literatura resultados contradictorios. Por ejemplo,

Schaible en 1934, afirmó que el contenido de 1 a 2% de sulfato ferroso heptahidratado en la ración, protegía en contra de la coloración anormal de los huevos, al usar cantidades hasta de 40% de harina de semilla de algodón (43). En cambio, Fletcher (64) en 1952, alimentando gallinas New Hampshire con 0.03% de gosipol libre en la dieta y almacenando los huevos por períodos que variaron de 60 a 150 días, encontró que sólo el 5% de los huevos habían adquirido coloración anormal cuando los niveles administrados fueron de 0.08% de gosipol libre y 0.5% de $FeSO_4 . 7H_2O$. Más del 50% de los huevos se acusaron coloración al almacenarlos durante un período de tres meses, y más del 80% cuando el almacenaje fue de cuatro meses y medio. Dicho autor también comprobó que la adición de $FeSO_4 . 7H_2O$ a dietas libres de gosipol, no causaba ninguna alteración en el color de los huevos durante el almacenaje. Kemmerer y colaboradores sometieron a prueba el efecto de raciones que contenían 20% de harina de semilla de algodón con gosipol, y niveles de 0.025, 0.05 y 0.10 de $FeSO_4 . 7H_2O$ ó 0.4% de $FeSO_4 . 7H_2O$ En ningún caso encontraron coloración objetable en los huevos después de su almacenaje (57). Heywang no obtuvo resultados efectivos con la suplementación de dietas para gallinas ponedoras con 0.5% de $FeSO_4 . 7H_2O$. En cambio, encontró que el test de amonio no siempre daba resultados que tuviesen relación con la coloración que toman los huevos con el almacenaje (65). Clawson *et al.*, (66). por otra parte, opinan que el hierro da efectos protectores contra la acción del gosipol, siempre que ambos sean administrados por la misma vía. Gallup (63), y Wallace *et al.*, en una cita de Kemmerer (67), así como Clawson y colaboradores (66), han alcanzado limitado éxito en la eliminación del color anormal de los huevos producida por el gosipol, al adicionar hierro a la ración, en diversas formas. Hay informes de que otras sales de Fe pueden dar buenos resultados en otras especies de animales, tales como ratas y conejos, para los que el citrato férrico amónico ha demostrado ser efectivo; y solamente en el caso de las ratas, el sulfato ferroso amónico y el oxalato ferroso (68). Sin embargo, no se sabe si estos compuestos puedan ser eficaces al tratarse de cerdos o de aves. Los trabajos realizados por Bressani y colaboradores con la Mezcla Vegetal INCAP 9, en el Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá, demostraron que la acción del sulfato ferroso para reducir el contenido de gosipol libre en raciones para animales, era particularmente efectiva al administrarse en unión de $Ca(OH)_2$

ya que el pH alcalino favorece la formación del complejo Fe-gosipol (69). Un interesante descubrimiento para eliminar el problema de la coloración oscura de la yema del huevo de gallina lo constituye el notificado por Grau *et al.* (70). El tratamiento de la harina de semilla de algodón con floroglucinol permite alimentar con ésta a gallinas ponedoras sin que se obtengan huevos manchados. Aun cuando por ahora el tratamiento indicado no resulta práctico, sí aporta valiosa información sobre la naturaleza del problema.

E. *Otros efectos de la Alimentación de Gallinas Ponedoras con Harina de Semilla de Algodón*

1. *Descenso en la producción de huevos*

Estudios sobre la producción de huevos en gallinas alimentadas con harina de semilla de algodón son confusos debido a los efectos atribuidos al gosipol y a otros componentes de dicha harina. Heywang y Bird, citados por Phelps, por un lado, (45), y Narain y colaboradores, por el otro (10), subrayan que el gosipol libre administrado en cantidades suficientes, puede disminuir la producción de huevos. Shenstone y Vickery encontraron que la inyección de 250 miligramos diaros de ácido malválido o estercúlico a gallinas ponedoras, hacía cesar la postura dos días después de iniciada la suplementación (51). Otros autores sugieren que, aparentemente, el gosipol en forma de semilla de algodón cruda o de harina, estimula la producción de huevos (3).

2. *Disminución de la fertilidad*

El retardo en el desarrollo del ovario y oviducto mediante la administración de dosis de 200 miligramos diarios de aceite de Sterculia foetida, con la consecuente inhibición en la producción de huevos, fue notificado por Schneider *et al.*, en 1962 (58-60). Según Reiser, Naber y Morgan (61, 62), los productos de semilla de algodón disminuyen la fertilidad de los huevos. Heywang *et al.*, citados por Phelps (45), por su parte encontraron que el gosipol puro puede reducir la fertilidad si el nivel de éste en la ración es de 0.024% o más, pero que en niveles de 0.012%, no ocurren alteraciones en este sentido. Morgan y Ringrose, citados por Phelps, indicaron en 1939 que los productos de semilla de algodón, como el aceite refinado y ácidos grasos del mismo, disminuían la fertilidad

de los huevos cuando éstos formaban parte de la alimentación de las gallinas: en cambio, la mezcla del aceite de semilla de algodón hidrogenado, la fracción insaponificable del aceite e impurezas de refinación, no ocasionaron ninguna merma en la fertilidad (45). Schneider *et al*., informan del efecto que la alimentación diaria de gallinas ponedoras con aceite de *Sterculia foetida,* diluido con aceite de maíz, tiene sobre la mortalidad del embrión. Los resultados de dichos estudios hicieron manifiesto que los embriones de huevos de gallinas alimentadas con 150 mg diarios de aceite pueden morir al 5o. día de incubación, si las gallinas recibieron la ración durante el término de 53 días previo a la recolección de los huevos (59). Según algunos autores, los efectos sobre el embrión son causados por los grupos ciclopropenoides (54). Schaible y Bandemer (54) sugieren que es un factor en la harina de semilla de algodón el que causa la alteración de la membrana vitelina de los huevos, Shenstone y Vickery (45, 51) suponen que los ácidos con reacción Halphen positiva pueden hacer fuertemente activas las propiedades superficiales, lo cual es posible que suceda por su influencia sobre la permeabilidad de las membranas vitelinas. Dichos autores creen que los ácidos ciclopropenoides ejercen tal acción cambiando la estructura de la emulsión de la yema y produciendo cambios en el saco vitelino. Esta sugerencia la basan en sus observaciones de que los ácidos ciclopropenoides se combinaron con lípidos de la yema y probablemente no en la membrana vitelina. Hale en 1950, citado por Phelps (45), quien estudió los cambios ocurridos en los huevos después de congelados, confirmó el hecho de que esos efectos son debidos a la permeabilidad en la membrana vitelina. Los cristales de hielo formados en el proceso de congelación, fueron capaces de perforar el saco vitelino, produciéndose así un incremento en la permeabilidad del mismo, a lo que siguió una rápida difusión de los componentes a través de esa barrera. Schneider en 1962 (58) dio cuenta de que la suplementación parcial con ácido oleico, contrarresta el retardo de madurez sexual observado en pollas que han ingerido 200 miligramos diarios de aceite de *Sterculia foetida.* La producción de huevos asciende conforme aumenta la suplementación, pero aún con dosis de 2 gramos diarios no logró elevarse la producción al nivel de la obtenida con los grupos control.

3. *Tamaño y peso de los huevos*

Estudios encaminados a relacionar estos parámetros a la alimentación con gosipol han sido llevados a cabo por Heywang y colaboradores, también citados por Phelps, (3), utilizando como fuentes de gosipol el pigmento puro, glándulas del mismo y harinas de semilla de algodón. Los resultados revelaron que la administración de 0.012% de gosipol puro no afectaba el peso de los huevos, mientras que niveles de 0.024% a 0.036% sí lo disminuían (3). Por otro lado, Narain y colaboradores, usando glándulas como fuente de gosipol, no observaron ningún efecto sobre el peso al suministrar éstas al nivel de 0.02%, pero sí hubo descenso ponderal cuando el nivel usado era de 0.04% (10). Brant y Carver, citados por Phelps (3) en el curso de otros experimentos en los que utilizaron 13% de harina de semilla de algodón en el caso de pollas, y 5% para gallinas, no pudieron determinar ningún efecto adverso sobre el peso de los huevos. A partir de los estudios realizados hasta la fecha se deduce que es posible que en el futuro lleguen a obtenerse medios de evitar los efectos adversos de la harina de semilla de algodón, con el fin de usarla más ampliamente en la alimentación de aves. Bien puede ser que, además, se logren semillas de algodón libres de gosipol, con los consiguientes beneficios que ello tendría tanto para la avicultura como para la alimentación de otros animales monogástricos.

III. MATERIALES Y METODOS

A. *Materiales*

La harina de semilla de algodón que se usó en el presente trabajo fue obtenida por el proceso de solvente; el material se almacenó en un cuarto refrigerado hasta el momento de practicar los análisis químicos y las pruebas biológicas. Su composición química se detalla en el Cuadro No. 1.

B. *Análisis Químicos*

La harina de semilla de algodón, así como las raciones para aves preparadas con ella, fueron analizadas para determinar su contenido de humedad, extracto etéreo, fibra cruda, nitrógeno, proteína y ceniza, usando los métodos de la A.O.A.C. (71). Se estimó también su contenido de gosipol libre y total por el método de la A.O.C.S. (72), y el de epsilon-amino lisina, según el procedimiento de Conkerton y Frampton (27). Las raciones a utilizar en la alimentación de las aves fueron calculadas con base en los datos correspondientes a proteína.

C. *Ensayos Biológicos*

1. *En aves*

La fase experimental en que se usaron aves se llevó a cabo en dos etapas. En la primera se usaron pollas recién nacidas, y en la segunda, gallinas jóvenes que se encontraban próximas a la postura, todas de raza Hy-line.

Se eleboraron doce dietas, tanto para el consumo de pollas como de gallinas, integrándose tres grupos de tratamiento, de modo que los animales de cada grupo recibían 4 dietas diferentes. El primer tratamiento (grupos 1, 2, 3 y 4), a base de harina de soya, fue administrado a los grupos control. El segundo consistió de raciones elaboradas con el nivel más bajo de harina de semilla de algodón (grupos 5, 6, 7 y 8), y el tercero, de dietas con el nivel más alto (grupos 9, 10, 11 y 12). En todos los tratamientos se investigó el el efecto de la adición de $Ca(OH)_2$ y de $FeSO_4\ 7H_2O$ para contrarrestar los efectos dañinos de la harina de semilla de algodón.

Para determinar la proporción en que dichas substancias serían agregadas, se hizo un estudio preliminar con el fin de efectuar el análisis estadístico y establecer así la significancia de las proporciones. El estudio en cuestión resultó ser significativo para 0.5% de $Ca(OH)_2$ y para 0.1% de $FeSO_4.7H_2O$ A partir de estos datos se diseñaron los dos experimentos con aves, de la siguiente manera:

Ración	*Tratamientos*
1	Ración control
2	Ración control más 0.5% de $Ca(OH)_2$
3	Ración control más 0.1% de $FeSO_4.7H_2O$
4	Ración control más 0.5% de $Ca(OH)_2$ y 0.1% de $FeSO_4.7H_2O$
5	Primer nivel de harina de semilla de algodón
6	Primer nivel de harina de semilla de algodón + 0.5% de $Ca(OH)_2$
7	Primer nivel de harina de semilla de algodón + 0.1% de $FeSO_4.7H_2O$
8	Primer nivel de harina de semilla de algodón + 0.5% de $Ca(OH)_2$ y 0.1% de $FeSO_4.7H_2O$
9	Segundo nivel de harina de semilla de algodón
10	Segundo nivel de harina de semilla de algodón + 0.5% de $Ca(OH)_2$
11	Segundo nivel de harina de semilla de algodón + 0.1% de $FeSO_4.7H_2O$
12	Segundo nivel de harina de semilla de algodón + 0.5% de $Ca(OH)_2$ y 0.1% de $FeSO_4.7H_2O$

a) *Primera etapa: pollas recién nacidas* — Se distribuyeron 240 pollitas de una semana de edad, hasta entonces alimentadas con un concentrado comercial adecuado, en 24 grupos de 10 pollas cada uno, de modo que el peso promedio entre los diferentes grupos no fuese de más de 4 gramos. Los animales se alojaron en jaulas colectivas de alambre y lámina, las cuales se mantuvieron en condiciones higiénicas adecuadas y fueron controladas termostáticamente.

La comida y el agua les fue administrada *ad libitum*, y las raciones, cuya composición se detalla en el Cuadro No. 2, se colocaron en el comedero colectivo correspondiente. Se hicieron los cálculos pertinentes a fin de que todas las raciones tuvieran alrededor de 22% de proteína.

Cada ración se dio a dos grupos de animales diferentes, a manera de obtener dos réplicas por tratamiento. El estudio duró diez semanas, período durante el cual se llevó un registro semanal de peso y de ingesta del alimento. A la novena semana se tomaron muestras de sangre en cinco pollitas representativas de cada grupo, para determinación de hemoglobina y proteínas totales. En los grupos en que los animales no llegaban a ese número, las muestras fueron colectadas de las pollitas disponibles. Al final del estudio se sacrificaron las aves, extrayéndoseles el hígado, el nervio ciático y los fémures.

b) *Segunda etapa: gallinas* — Se utilizaron 60 pollas de 19 semanas de edad, las que fueron distribuidas en 12 grupos de 5 pollas cada uno, tratándose de que el peso promedio de los diferentes grupos experimentales fuera lo más semejante posible. En este caso, las aves se alojaron en jaulas individuales con comederos colectivos. La proporción de ingredientes de cada una de las doce raciones usadas se detalla en el Cuadro No. 3. Las raciones se calcularon de modo que todas tuvieran alrededor de 16% de proteína. Se llevó un control semanal de peso y consumo de alimento y la recolección de los huevos se hizo a partir de la 24a. semana de edad, identificándolos con el número de gallina, número de grupo y fecha de postura; luego se almacenaron en un cuarto refrigerado a la temperatura de 4°C.

2. *En ratas*

Este experimento se llevó a cabo con el fin de evaluar el valor nutritivo de los huevos obtenidos en la 2a. etapa del estudio con aves. Para el efecto, 42 ratas blancas, raza Wistar, provenientes de

la colonia animal del INCAP, de 3 semanas de edad, fueron distribuidas en 7 grupos experimentales, de manera que el peso promedio entre los grupos no excediera en más de un gramo, y se asignaron 3 hembras y 3 machos a cada grupo. La composición de las raciones con que estos animales fueron alimentados se detalla en el Cuadro No. 4.

Las ratas se alojaron en jaulas individuales de alambre, con fondos levantados de tela metálica. Tanto las dietas como el agua les fueron ofrecidas *ad libitum*, llevándose control semanal de peso y del consumo de alimento para calcular el índice de eficiencia proteica de la ración (73). La duración del estudio fue de 28 días, a excepción del grupo No. 5 que únicamente pudo estudiarse por el término de 21 días por ser insuficientes los huevos obtenidos de las gallinas que integraban dicho grupo.

Cabe agregar que el contenido de proteína de todas las dietas, fue determinado también por el método de la A.O.A.C. (71).

El material usado como fuente de proteína para las dietas se preparó de la manera siguiente. Se sometieron a cocción los huevos de las gallinas de cada grupo, sumergiéndolos durante 15 minutos en agua hirviendo; luego se dividieron en trozos pequeños, se liofilizaron* y se molieron, tamizándolos a un grueso de 60 mallas. La harina de huevo así obtenida se analizó entonces para establecer su contenido de proteína.

D. *Determinaciones en Material Biológico*

1. *En sangre*

De cada pollita se obtuvieron dos muestras de sangre por punción cardíaca, una de 2 ml. a la que se agregó una pequeña cantidad de sal disódica del ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) para evitar la coagulación, y otra muestra, de 3 ml., a la que no se adicionó el anticoagulante. La muestra con EDTA se mantuvo a la temperatura de 5°C. hasta el momento de hacer la determinación de hemoglobina, para lo cual se usó el método de la cianmetahemoglobina de Cannan (74). La segunda muestra se dejó a temperatura ambiente hasta que el coágulo se separó del suero, y luego se centrifugó a 3,500 rpm., durante 15 minutos. El suero fue transferido a otro tubo y el mismo día de la extracción se hizo la determinación de proteínas totales por el método de Lowry y Hunter (75).

* Esta liofilización se llevó a cabo en el Instituto Centroamericano de Investigaciones y Tecnología Industrial (ICAITI)

2. *En huesos de pollitas*

Los fémures de las pollitas se limpiaron e identificaron, sometiéndose después a las siguientes determinaciones: humedad, grasa, proteína y ceniza (71).

3. *En hígados de pollitas*

Los hígados se dividieron, cada uno, en dos porciones: una de 2 gramos de la cual se preparó un homogeneizado para determinación de las enzimas deshidrogenasa succínica* y transaminasa oxalacética del ácido glutámico, lo que se hizo por el procedimiento Sigma-Frankel*. El resto del hígado se liofilizó, determinándose su contenido de humedad y extracto etéreo por los métodos de la A.O.A.C., y gosipol total, según el procedimiento de la A.O.C.S. (72).

4. *En huevos*

Se estudió su valor nutritivo y coloración. Para estimar el valor nutritivo se calculó la eficiencia proteica de aquellas raciones en las que se usó la harina de los huevos como fuente de proteína. La coloración se estimó mediante observación visual haciendo comparaciones entre los huevos de gallinas alimentadas con raciones que no contenían harina de semilla de algodón (grupos control) y las que sí tenían este ingrediente en distintas proporciones (Cuadro No. 3). La observación estuvo a cargo de tres personas, promediándose después los valores asignados a los huevos. Dicha estimación se hizo abriendo la totalidad de los huevos y dándoles valores de coloración conforme a una escala formulada arbitrariamente. Se buscó el color más obscuro, al que se le asignó un valor de cuatro, y los huevos coloreados normalmente se valoraron como cero, quedando establecida así una escala para los colores intermedios. Cuando además de establecerse en la yema coloración oscura, la clara acusaba también un tinte rosáceo, este hecho se anotó separadamente.

* Sigma Chemical Co. 1963 — Tech. Bull. No. 505 (May).

IV. RESULTADOS

A. *Análisis de las Raciones*

Los resultados del análisis de la harina de semilla de algodón constan en el Cuadro No. 1, y los correspondientes a las raciones para aves en las cuales se usaron harinas de soya y de semilla de algodón, se encuentran sumarizados en los Cuadros Nos. 5 y 6.

Según se observa en el Cuadro No. 5, el contenido de humedad, extracto etéreo y proteína se mantuvo bastante constante, con promedios de 11.1, 3.2 y 21.3 g. %, respectivamente, mientras que los valores de fibra cruda fluctuaron entre 4.4 y 10.5 g. %, y los de ceniza entre 6.2 y 7.3. Estos incrementos fueron debidos al uso de la harina de semilla de algodón en vez de la harina de soya.

Las cuatro primeras raciones (control) no contenían harina de semilla de algodón, mientras que las 8 restantes sí tenían diversas proporciones de la misma. Por este motivo, los valores de gosipol variaron de 0.048 a 0.123 g. % para gosipol libre, y de 0.260 a 0.514 g. % para gosipol total. Los valores de epsilon-amino lisina fueron más altos en las cuatro primeras raciones, que contenían 35% de harina de soya, oscilando entre 4.35, en el caso de la ración No. 4, a 4.95 g/16 g de N en la ración No. 2. En las 8 dietas restantes, elaboradas con harina de semilla de algodón, los valores variaron de 4.07 para la ración No. 6, que contenía 25% de harina de semilla de algodón más Ca, a 2.78 g/16 g de N para la No. 11, cuyo contenido de harina de semilla de algodón era de 50%.

Los resultados del análisis de las 12 raciones administradas a las gallinas (Cuadro No. 6), siguen la misma tendencia que los obtenidos con las raciones para pollas (Cuadro No. 5), debiéndose las diferencias al distinto porcentaje de harina de semilla de algodón utilizado.

B. *Ensayos Biológicos*

Los resultados del primer ensayo biológico llevado a cabo en pollas en proceso de crecimiento, se presentan en el Cuadro No. 7.

Como los datos lo revelan, los incrementos ponderales fueron significativamente superiores en las aves alimentadas con raciones a base de harina de soya, y éstos disminuyeron conforme el nivel de harina de semilla de algodón en la ración aumentaba. El aditivo de calcio mejoró significativamente el incremento en peso en el grupo que recibió 25% de harina de semilla de algodón y, ligeramente, en el grupo alimentado con 50% de ésta. En términos

de ganancia ponderal, la adición de hierro aparentemente tuvo un efecto más notorio en las pollas cuyas raciones contenían 50% de harina de semilla de algodón que en las que consumieron las dietas preparadas con 25% de la misma harina. Finalmente, el agregado de calcio y hierro no produjo un mejor efecto que el observado sólo con hierro.

Los valores más altos en lo que respecta a eficiencia del alimento, se obtuvieron con los grupos control (raciones 1, 2, 3 y 4), cuyo promedio fue de 3.4.

En las raciones que contenían 25% de harina de semilla de algodón, los mejores índices de eficiencia del alimento se lograron con la ración suplementada con hierro.

En los grupos de pollas alimentadas con raciones cuyo contenido de harina de semilla de algodón era de 50% se observó un resultado similar al comentado anteriormente. La ración No. 9, sin ningún suplemento, acusó la menor eficiencia (7.9) y la No. 11, suplementada con hierro (5.3), la mayor eficiencia.

Con excepción de los grupos control (1, 2, 3, y 4) alimentados a base de soya, todos los que consumieron raciones con harina de semilla de algodón presentaron parálisis en las extremidades inferiores con una incidencia que varió entre 59, 41, 26, 25, 80, 20, 18 y 64%, es decir, de los grupos Nos. 5 al 12, respectivamente.

En el mismo cuadro (No. 7) figuran los datos de mortalidad, pudiendo apreciarse que ésta fue de 0% en los grupos control. El promedio de mortalidad en los grupos alimentados con 25% de harina de semilla de algodón alcanzó 14% y en aquéllos cuyas raciones contenían 50% de la misma harina sin suplementación o con el agregado de Ca, el promedio fue de 75%. Las pollas integrantes de los grupos que contenían el mismo nivel de harina de semilla de algodón, suplementados con hierro, o con calcio y hierro, acusaron un promedio de mortalidad de 45%.

En el Cuadro No. 8 se dan a conocer los datos concernientes a la cantidad de alimento consumido, producción y mortalidad obtenidos en los ensayos biológicos llevados a cabo en gallinas. Según revelan las cifras el alimento consumido fue de 11,305 g como promedio, en los grupos control que recibieron las dietas a base de soya, de 8,840 g para los alimentados con raciones que contenían 14.5% de harina de semilla de algodón, y de 5,634 g para aquéllos en cuyas raciones se incluyó 33% de dicha harina. En la mayor parte de los grupos, el Ca y el Fe redujeron el consumo de alimento, pero el efecto no fue consistente.

Con respecto a la producción de huevos, puede observarse que en los grupos de aves alimentadas a base de soya, la producción/gallina/2 semanas, fue bastante pareja durante las 14 semanas de recolección. Sin embargo, la producción fue menor en el grupo No. 1 que consumió la ración preparada sólo con soya, sin ningún suplemento.

En los grupos alimentados con dietas cuyo contenido de harina de semilla de algodón era de 14.5%, se observa que desde el inicio de la recolección de huevos la producción fue mayor en los grupos que recibieron las raciones suplementadas con Fe (ración No. 7) y con Ca más Fe (ración No. 8). Entre estos últimos la dieta No. 8 produjo los mejores resultados.

Al nivel de 33% de harina de semilla de algodón en la ración, la producción fue nula, salvo en el caso del grupo No. 9 del que se recolectaron 4 huevos durante las 14 semanas, y del grupo No. 11 (suplementado con Fe) del cual se recogieron 23 huevos en el mismo período.

Cabe aclarar que en la columna de producción total por grupo (Cuadro No. 8) los datos no corresponden a la suma de las cifras de producción durante el período de 2 semanas, ya que estos últimos son promedio de producción por gallina. En cuanto a la relación Pn/V (ponedoras/vivas), se aprecia que todas las gallinas vivas en los grupos control ponían huevos, mientras que en el caso de las que recibieron 14.5% de harina de semilla de algodón en la ración no todas las gallinas vivas ponían, constatándose una mejor relación Pn/V en las aves alimentadas con las raciones suplementadas con Fe y con Ca + Fe. En aquéllas cuyas raciones contenían 33% de la misma harina, la postura no guarda relación con el número de gallinas vivas, ya que en general fue negativa.

En la columna correspondiente a mortalidad, salta a la vista que ésta fue de 20% para los grupos control (4 animales de un total de 20); de 25% para los alimentados con raciones que contenían 14.5% de harina de semilla de algodón (5 de 20), siendo mayor la mortalidad entre aquéllas cuya dieta no se suplementó, y de 45% en el caso de las gallinas que consumieron las raciones con 33% de harina de semilla de algodón (9 de 20).

Los resultados del ensayo biológico llevado a cabo en ratas, cuyo propósito esencial fue estimar el valor nutritivo de los huevos, se detallan en el cuadro No. 9. Solamente se incluyen en él 7 grupos de ratas, debido a que los huevos de las gallinas de los grupos Nos. 6, 9, 10, 11 y 12 no fueron suficientes para preparar las raciones.

Según se observa, no hubo cambios apreciables en cuanto a la ganancia ponderal promedio de todos los grupos, que fue de 174 g, ni en lo referente a la proteína consumida durante los 28 días, que ascendió a 52 g.

Con respecto a la eficiencia proteica ésta no varió de 3.34 a 3.50 en los grupos control, alimentados con huevos de gallinas que consumieron raciones a base de soya, libre de suplemento o con el agregado de Ca o Fe.

En los grupos de ratas que consumieron huevos provenientes de gallinas alimentadas con 14.5% de harina de semilla de algodón, se observa que la eficiencia proteica aumentó de 3.18 a 3.31 en las ratas alimentadas con los huevos de gallinas que consumieron las raciones suplementadas con Fe y con Ca + Fe, respectivamente. Los valores correspondientes al grupo No. 5 no pueden compararse con los anteriores a causa de que la ración solamente alcanzó para 21 días de experimentación. Sin embargo, se nota que la eficiencia proteica no difirió de la de los demás grupos.

C. *Determinaciones en Material Biológico*

Los resultados de las determinaciones de hemoglobina y proteínas séricas totales se sumarizan en el Cuadro No. 10. Los valores de hemoglobina para los grupos alimentados con soya, según se observa, fueron más altos que en los grupos que recibieron harina de semilla de algodón a niveles de 25 y 50%, siendo los promedios de 8.3, 7.2 y 6.2 g/100 ml de sangre, respectivamente.

Es de interés destacar el hecho de que los grupos cuya dieta se suplementó con Fe, acusaron valores de hemoglobina más altos que los que no fueron suplementados.

Respecto a los niveles de proteínas séricas totales, evidentemente no hubo diferencias apreciables entre los distintos tratamientos.

La composición química del fémur de pollas alimentadas con harinas de soya y de semilla de algodón se detalla en el Cuadro No. 11.

El análisis estadístico a que se sometieron estos resultados revela diferencias altamente significativas ($P \geq 0.01$) entre los grupos control (soya) y los experimentales (harina de semilla de algodón a niveles de 25 y 50%) en lo concerniente a las determinaciones de humedad y extracto etéreo.

El análisis del contenido de ceniza de los huesos correspondientes a los distintos grupos no muestra diferencias de mayor cuantía, siendo el promedio de los 11 grupos, 25.8%.

Los valores de proteína variaron de un promedio de 16.5% en el caso de los animales que recibieron soya, a 22.1% en los alimentados con harina de semilla de algodón al nivel de 50%, con un valor intermedio de 19.3% para los que recibieron las raciones que contenían 25% de harina de semilla de algodón.

En cuanto a las determinaciones de humedad y extracto etéreo hechas en los hígados de pollas, los resultados obtenidos constan en el Cuadro No. 12. El contenido de humedad de los hígados no sufrió ninguna alteración con los distintos tratamientos. Los valores de extracto etéreo tampoco revelan variaciones entre los grupos control (soya) y los que recibieron 25 y 50% de harina de semilla de algodón en las raciones.

La evaluación del color de los huevos de gallinas alimentadas con ambos elementos (soya y harina de semilla de algodón), se detalla en el Cuadro No. 13. Según atestiguan los datos, los huevos de gallinas alimentadas con soya sola o suplementada con Ca y Fe, no mostraron ninguna coloración anormal.

En los huevos de gallinas que consumieron 14.5% de harina de semilla de algodón, el grupo que acusó mayor porcentaje de yemas de coloración más intensa fue el No. 6, cuya ración se suplementó con hidróxido de calcio; a la vez, dicho grupo fue el que presentó también la mayor incidencia de claras de color rosado, con un valor de 43%.

En el grupo No. 7 — que corresponde a las gallinas que consumieron la ración suplementada con sulfato ferroso — todos los huevos presentaban manchas con valores en cuanto a color, de 2, 3 y 4 siendo estos últimos los más abundantes (50%). No se observaron claras rosadas.

El grupo No. 8 que recibió la ración suplementada con hidróxido de Ca + sulfato ferroso, se constató un 50% de yemas con valor 4, mientras que el otro 50% estuvo igualmente distribuido en valores de 2 y 3. En este grupo tampoco se observaron claras rosadas.

De las gallinas que consumían 33% de harina de semilla de algodón, sólo se recolectaron huevos de los grupos Nos. 9 y 11. En este caso, todas las yemas estaban coloreadas, siendo en el grupo No. 9, más alto el porcentaje de yemas de valor 3 en el grupo No. 9 (67%); el resto de las yemas (33%) acusaron un valor de coloración de 4. El 33% de las claras presentó color rosado.

En el grupo No. 11 todas las yemas presentaban manchas, habiendo un 26% de yemas con valor 3, y 74% de yemas con valor 4. En este mismo grupo el 37% de las claras presentó coloración rosada.

Las Gráficas 1 y 2 muestran la actividad de dos enzimas del hígado de los grupos de aves alimentadas con las diferentes raciones. La actividad de la deshidrogenasa succínica se presenta en la Gráfica 1, pudiendo observarse que en el grupo que consumió 25% de harina de algodón, la actividad de esta enzima se redujo significativamente. Por no disponerse de material, dicha actividad no pudo estudiarse en el grupo alimentado con 50% de la misma harina, libre de suplementación. Los efectos más ostensibles fueron observados en los animales que recibieron la dieta con 50% de proteína y, aparentemente, la adición conjunta de calcio y hierro corrigió la depresión observada en los grupos sin aditivos o cuya dieta se suplementó sólo con Ca o con Fe. La actividad de la transaminasa glutámico-oxalacética se encontró ligeramente aumentada en los grupos de aves alimentadas con 25 ó 50% de harina de semilla de algodón, sobre todo con los aditivos de calcio y hierro.

V. DISCUSION

Según revelan los resultados de estudios llevados a cabo por algunos investigadores en cerdos alimentados con harina de semilla de algodón a la cual se había agregado calcio y hierro, estos iones redujeron la toxicidad del gosipol libre de las raciones utilizadas por ellos (2). En vista de la importancia práctica de dicho hallazgo, uno de los objetivos de nuestro estudio fue determinar si era factible producir el mismo efecto protector en gallinas. De serlo así se lograría una producción más económica de huevos, ya que la harina de soya usada en las raciones comerciales de gallinas ponedoras podría substituirse parcial o totalmente por la harina de semilla de algodón, ingrediente que es producido localmente.

El efecto de la adición de los iones se midió mediante varios métodos, además de obtenerse información sobre el consumo de alimento, su conversión y el crecimiento de las aves. Las técnicas utilizadas se aplicaron en los análisis de sangre y tejidos de los animales, así como en la determinación de la calidad del huevo, postura y resistencia del ave al gosipol.

En general los resultados del presente trabajo indican que la harina de semilla de algodón cuyo contenido de gosipol libre es de 131 mg/100 g no puede reemplazar ni aún el 25% de la harina de soya en la ración. A pesar de que las dietas fueron suplementadas con lisina para reducir el número de variables a una solamente, los niveles altos de gosipol tuvieron un efecto adverso en el desarrollo de la gallina ponedora joven, y en la ponedora en producción. Los hallazgos también sugieren un pequeño efecto del ion de hierro, pero no así del de calcio, en cuanto a reducir la toxicidad del gosipol. Es probable que los niveles en que éste se usó hayan sido mayores que las cantidades de hierro utilizadas, dando así, en realidad, poca protección al animal.

Según se mencionó, la única variable que se deseaba investigar era el nivel de gosipol libre en las dietas. Por esta razón, las dietas que contenían 25% de harina de semilla de algodón fueron suplementadas con 0.1% de lisina, y las que tenían 50% de esa harina, con 0.2%. A juzgar por los datos derivados del análisis de lisina a que se sometieron las raciones, el contenido de este aminoácido decrece conforme la cantidad de harina de semilla de algodón aumenta. Sin embargo, este efecto en realidad se debió a que la harina adicionada fue destruida durante la hidrólisis de la proteína, por lo cual dio valores bajos.

Los efectos de los iones de Ca y Fe pueden observarse en algunos de los resultados obtenidos. Por ejemplo, los incrementos ponderales que hubo cuando la ración contenía 25 ó 50% de harina de semilla de algodón fueron superiores cuando el ion utilizado era el de hierro, aun cuando el ion de calcio también tuvo un pequeño efecto protector. La adición de ambos iones no se tradujo en un efecto protector sinérgico, hallazgo éste que no concuerda con los resultados de los experimentos con cerdos (2). En este sentido también es interesante señalar que los iones de Ca y Fe redujeron el número de animales paralíticos tanto en el caso de aquéllos que consumieron las raciones con 25% de harina de semilla de algodón, como en los alimentados con la dieta de 50% de la misma harina. En este último grupo, la mortalidad fue alta, pero el hierro, ya fuese solo o en combinación con calcio, la redujo significativamente, lo que no sucedió cuando el aditivo usado fue sólo calcio.

El síntoma paralítico observado sugirió cierta deficiencia de riboflavina, ya que la apariencia del animal (Figura 1) era característica de la carencia de esta vitamina (76). Además, el examen microscópico del nervio ciático demostró que éste se encontraba completamente alterado (Figura 2). Estos hallazgos sugieren, por lo tanto, que la presencia de niveles altos de gosipol en la dieta puede afectar la utilización de la riboflavina, ya que las raciones fueron suplementadas con cantidades adecuadas de este nutriente. Esta es la primera vez que se constata tal observación, por lo que sería de interés investigar más a fondo estos aspectos.

El mecanismo de toxicidad del gosipol, que todavía no ha sido descrito, podría estar relacionado a una interferencia en la utilización de la riboflavina por parte del animal. Es de interés destacar que las harinas de semilla de algodón contienen niveles sumamente bajos de riboflavina y que, en la mayor parte de los casos, son deficientes en esta vitamina (5).

Los iones de hierro también tuvieron un efecto protector en la postura de las gallinas ponedoras, sobre todo al usarse el nivel bajo de gosipol libre; no así los iones de calcio, que sólo en un caso tuvieron como resultado la producción de más huevos. Estos datos son contrarios a los obtenidos en cerdos. Es posible que las cantidades utilizadas hayan sido muy bajas para la cantidad de gosipol libre presente en las dietas, así como en relación a las necesidades de Ca de las gallinas ponedoras que, evidentemente, son altas para la formación de huevos.

Sin embargo, conviene recordar que los niveles de calcio y hierro fueron determinados previo a su utilización en los estudios biológicos. Para estos últimos se usaron tres harinas con un contenido diferente de gosipol libre, las cuales fueron homogeneizadas con agua, utilizando las cantidades de sulfato ferroso y de hidróxido de calcio que se indican en el Cuadro No. 14. Después de secarlas mediante liofilización, fueron analizadas para establecer su contenido de gosipol libre. Los resultados de este último análisis químico, examinados estadísticamente, revelaron diferencias altamente significativas al usarse las proporciones de 0.5% de hidróxido de calcio y 0.1% de sulfato ferroso. Por consiguiente, éstas fueron las cantidades de estos compuestos utilizadas en las raciones. Es posible que, *in vivo,* se requieran cantidades mayores debido a la utilización de estos compuestos por el animal.

Según los estudios en cerdos (2), el gosipol reduce los niveles de hemoglobina de estos animales, y el hierro y el calcio tienden a contrarrestar este efecto. Los datos de nuestro estudio indican también que el gosipol reduce la hemoglobina en las aves, y que los iones —especialmente el de hierro— contrarrestan el efecto del gosipol en este sentido.

En cuanto a la composición química del hueso, la presencia de gosipol aumenta la concentración de agua aproximadamente en una vez y media, pero ni el hierro ni el calcio reducen las concentraciones a valores normales, a pesar de que el contenido de ceniza, en base fresca, es igual que el de los grupos control expresado también en base fresca, pero aumentado en base seca. Este hallazgo, así como la mayor cantidad de proteína en el hueso se debe a que éste último contiene cantidades significativamente menores de grasa en los animales alimentados con harina de semilla de algodón. Estos resultados no pueden explicarse, a menos que ello se deba a una ingesta menor del alimento y a cierto retraso en el desarrollo óseo del animal ocasionado por el gosipol. Bien podría ser también que ello se debiese a la interferencia por parte del gosipol con la riboflavina, aunque esta suposición amerita, desde luego, mayor investigación. Braham *et al.* (77) describen el hecho de que cierta deficiencia de lisina en cerdos induce un aumento en la grasa del hueso así como en la del hígado. Por consiguiente, los resultados del presente trabajo no pueden explicarse en base a una interferencia del gosipol con la lisina, ya que el efecto observado fue todo lo contrario. Los hallazgos del presente estudio en lo concerniente al hígado, muestran más o menos la misma tendencia que los obtenidos en el hueso, a pesar de que las diferencias ocasionadas por la harina de semilla de algodón o el gosipol no son

tan notorias. Se ha informado (78) que animales alimentados a base de harina de semilla de algodón con gosipol, depositan parte de este último en el hígado. En la investigación objeto de esta Tesis, se realizaron varios análisis en los hígados, pero no se da cuenta de ellos por haberse determinado que el color de la reacción no podía atribuirse al gosipol.

El agregado de calcio y hierro tampoco tuvo un efecto claro de protección en contra de la coloración adversa de la yema del huevo, lo cual fue un hallazgo inesperado. Los resultados obtenidos por varios investigadores (42, 43, 46, 52, 53, 57) indican que la coloración intensa de los huevos de gallinas alimentadas a base de harina de semilla de algodón se forma al almacenar los huevos por períodos aproximados de un mes. En el estudio aquí descrito se encontró que los huevos ya venían alterados desde su producción, de nuevo posiblemente debido a la alta ingesta de gosipol por parte de las gallinas. Sin embargo, esto puede haber sucedido porque los niveles de gosipol en las raciones eran sumamente altos, lo que no permitió que el Ca y el Fe redujeran el efecto del gosipol en este sentido. La reducción del gosipol en las raciones fue menor de la que se esperaba, posiblemente a causa de que éstas no se humedecieron, condición que, según han demostrado estudios anteriores (69), reduce aún más el gosipol. Sin embargo, la calidad de la proteína del huevo no se vio afectada por los niveles de gosipol utilizados en las raciones de las gallinas ponedoras, a pesar de que los huevos estaban por completo alterados. Aparentemente, el pigmento que induce la decoloración no reacciona con la lisina de la proteína del huevo, ya que de haber sido así habría causado cierta reducción en la calidad de la proteína, puesto que el complejo lisina-gosipol no es utilizado (27).

Se considera de interés destacar, por último, que los cambios obtenidos en las enzimas se parecen a los observados en cerdos en estudios anteriores (77).

A pesar de que en los párrafos introductorios de este Capítulo se indicó que la harina de semilla de algodón con niveles altos de gosipol libre no puede utilizarse en raciones para gallinas ponedoras, se considera necesario el desarrollo de estudios similares a los informados en este trabajo, pero empleando harinas de semilla de algodón a niveles inferiores, tal vez de menos de la mitad del valor de la harina usada en nuestro estudio. Este curso de acción tendría utilidad práctica, ayudando al mejor empleo de materias primas producidas en el área. Se sugiere, pues, que tales investigaciones se lleven al campo de la realidad, así como otros

diseñados para establecer la relación entre gosipol y riboflavina y entre gosipol y composición corporal, principalmente en el hueso. Indudablemente, tales estudios serían de interés, ya que existe cierta tendencia a procesar la semilla de algodón con solvente, método cuyo resultado son harinas de más alto contenido de gosipol libre.

VI. RESUMEN

El trabajo de Tesis aquí descrito, se desarrolló con el propósito de estudiar los efectos que la alimentación a base de harina de semilla de algodón con altos niveles de gosipol, produce en pollas en proceso de crecimiento y en gallinas ponedoras. Para el efecto se diseñó la experimentación a modo de cumplirla en dos etapas importantes de la vida de dichas aves: en la época de crecimiento y durante la producción de huevos. Las gallinas fueron alimentadas en ambas etapas con doce raciones diferentes, cuatro de las cuales constituyeron los grupos control. Las otras ocho se distribuyeron igualmente para formar los dos grupos siguientes: pollas en proceso de crecimiento, que recibían 25 y 50% de harina de semilla de algodón en la ración, y gallinas en producción, cuyas dietas contenían 14.5 y 33% de la misma harina. Los niveles de gosipol libre fueron así de 0.053, 0.107, 0.033 y 0.060 g %, respectivamente. Todas las raciones fueron suplementadas con lisina a fin de que el contenido de gosipol fuese la única variable. Además, se estudió el efecto de la adición de calcio y hierro en forma de hidróxido de calcio y de sulfato ferroso heptahidratado, para establecer la posibilidad de que éstos contrarrestasen la acción tóxica del gosipol.

Los resultados obtenidos hicieron manifiesto que ni el calcio ni el hierro pueden eliminar totalmente los efectos adversos del gosipol en los niveles usados en las raciones.

La aves en proceso de crecimiento que recibieron 25 y 50% de harina de semilla de algodón, desarrollaron una parálisis característica de la deficiencia de riboflavina, que fue confirmada por la posición de las extremidades inferiores hacia adentro, y por la atrofia del nervio ciático no obstante que las raciones habían sido suplementadas con esa vitamina. Los iones de Ca y Fe fueron efectivos en alto grado en el sentido de reducir la incidencia del efecto paralizante observado. Por consiguiente, se considera necesario investigar más a fondo este aspecto utilizando distintos niveles de harina de semilla de algodón y donde la única variable sea la cantidad de esa vitamina.

El estudio llevado a cabo en lo referente a la producción de huevos subrayó que la harina con 131 mg/100 g de gosipol libre

no puede usarse en la alimentación de gallinas ponedoras ni siquiera para substituir el 14.5% de la ración, ya que en todos los grupos que consumieron dicho nivel, si bien la producción no fue nula —como sucedió en el caso del nivel de 33%— sí fue bastante pobre. Además, todos los huevos obtenidos de las gallinas integrantes de dichos grupos acusaron manchas, es decir, yemas anormalmente coloreadas de verde-olivo obscuro y, algunos, claras rosadas. A este respecto cabe aclarar que los iones de calcio y hierro fueron también efectivos parcialmente en reducir la coloración anormal de los huevos, sobre todo cuando el nivel de harina de semilla de algodón era de 14.5%.

A pesar de que los huevos coloreados acusaron igual calidad proteica que los colectados de los grupos control, no resultarían agradables a la vista del consumidor.

Se notó, asimismo, que la composición química del hueso era influenciada por el gosipol, constatándose que los fémures de las gallinas que consumieron harina de semilla de algodón contenían más agua y menos grasa que los de las aves control, sin observarse variación alguna en los niveles de proteína y ceniza. Por otro lado, los niveles de hemoglobina se redujeron y los iones contrarrestaron este efecto, siendo el de hierro más efectivo que el de calcio en cuanto a la inactivación del gosipol.

De lo expuesto se deduce que el calcio y el hierro no eliminaron los efectos del gosipol en la harina utilizada en este trabajo. Sin embargo, es posible que sí lo hagan en el caso de que la ración contenga niveles inferiores de gosipol.

VII. RECONOCIMIENTOS

La elaboración de este trabajo de Tesis fue posible gracias a la beca que el Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), al cual consigno mi profunda gratitud, tuviera la gentileza de otorgarme.

Hago público, además, mi reconocimiento al Dr. Ricardo Bressani, Jefe de la División de Ciencias Agrícolas y de Alimentos de dicha Institución, bajo cuya asesoría se realizó este trabajo, y a los Dres. J. Edgar Braham y Roberto Gómez Brenes, así como al Lic. Luis Gonzaga Elías, quienes en todo momento me brindaron su valiosa colaboración. A los Sres. César Alfredo Conde, Lauro Rivera y demás miembros del Personal de la División de Ciencias Agrícolas y de Alimentos, agradezco también su desinteresada ayuda.

VIII. BIBLIOGRAFIA

1. Bressani, R., Elías, L. G. and Braham, E. *Cottonseed Protein in human food.* In: World protein resources; a symposium... 1965, Aaron M. Altschul, Symposim Chairman. Washington, D. C., American Chemical Society, 1966. p. 75-100 (Advances in Chemistry Series, 57).

2. Jarquín, R., Bressani, R., Elías, L. G., Tejada, C., González, M. and Braham, J. E. *Effect of cooking and calcium and iron supplementation on gossypol toxicity in swine.* J. Agr. Food Chem. *14:* 275. 1966.

3. Phelps, R. A. *Cottonseed meal for poultry: from research to practical application.* World' Poult. Sci. J. *22:* 86-12. 1966

4. Elías, L. G., Sánchez, S. y Bressani, R. *Comparación entre distintos métodos para evaluar la harina de semilla de algodón.* En preparación. Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá. Guatemala.

5. Altschul, A. M., ed., Lyman, C. M., Thurber, F. H., *Cottonseed meal in processed plant protein food stuffs.* New York Academic Press, P. 469-534. 1958.

6. Heywang, B. W., Heidebrecht, A. A., Kemmerer, A. R. *Discoloration in stored eggs when layers at two locations were fed cottonseed meals made from gland less and glanded seed.* Poult. Sci. *44:* 573-577. 1965.

7. Lily, R. J. and Bird, H. R. *Effect of oral administration of pure gossypol and of pigments glands of cottonseed on mortality and growth of chicks.* Poult. Sci. *39:* 390-393. 1950.

8. Couch, J. R., Chang, W. Y. and Lyman, C. M. *The effect of free gossypol on chick growth.* Poult. Sci. 34: 178-183. 1955.

9. Eagle, E. and Davies, D. L. *Feed value and protein quality determination on cottonseed meals.* J. Am. Oil Chemists' Soc. *34:* 454-459. 1957.

10. Narain, R., Lyman, C. M. and Couch, J. R. *High levels of free gossypol in hen diets: Effects on body weight, feed Consumption and egg production.* Poult. Sic. *36:* 1351-1354. 1957.

11. Lipstein, B., Bornstein, S. *Studies with acidulated cottonseed oil soapstock.* 1. *Its use as a fat supplement in practical broiler rations.* Poult. Sci. *43:* 686-693. 1964.

12. Heywang, B. W. and Bird, H. R. *Egg production, diet consumption and live weight in relation to the free gossypol content of the diet.* Poult. Sci. *33:* 851-854. 1954.

13. Curtin, L. V. and Raper, J. T. *Feeding value of hydrolized vegetable fats in broiler rations.* Poult. Sci. 35: 273-278, 1956.

14. Naber, E. C. and Morgan, C. L. *Fat supplementation of chick starting rations containing cottonseed meal.* Poult. Sci. *36:* 727-732. 1957.

15. Lipstein, B. and Bornstein, S. *Studies with acidulated cottonseed oil soapstock.* 2. *Attempts to reduce its gossypol content.* Poult. Sci. *43:* 694-701. 1964.

16. Narain, R. C., Lyman, C. M., Deyoe, C. W., and Couch, J. R. *Effect of protein level of the diet on free gossypol tolerance in chicks.* Poult. Sci. *39:* 1556-1559. 1960.

17. Gallup, W. D. and Reder, R. *The influence of certain dietary constituents on the response of rats to gossypol ingestion.* J. Agr. Research. *51:* 259-266. 1935.

18. Hale, F., Lyman, C. M. and Smith, H. A. *Use of cottonseed meal in swine rations.* Texas Agr. Expt. Sta. Bull. 898. 1958. 14 p.

19. Heywang, B. W., Bird, H. R. *Relationship between the weight of chick and levels of dietary free gossypol supplied by different cottonseed products.* Poult. Sci. *34:* 1239-1247. 1955.

20. Jonassen, H. B. and Demint, R. J. *Interaction of gossypol with the ferrous ion.* J. Am. Oil Chemists' Soc. *32:* 424-426. 1955.

21. Haas, R. H. and Shirley, D. A. J. Org. Chem. *30:* 4111-4113. 1965. In: Phelps, R. A. *Use of iron salts to counteract gossypol in cottonseed meal.* Loc. cit. (68).

22. Earle, E., Bialeck, H. F., Davies, D. L. and Bremer, J. W. *Detoxification of cottonseed by salts and alkalies.* J. Am. Oil Chemists' Soc. *31:* 121-124. 1954.

23. Bressani, R. y Elías, L. G. *Cambios en la composición química y valor nutritivo de la proteína de la harina de semilla de algodón durante su procesamiento.* En preparación. Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá. Guatemala.

24. Condon, M. Z., Jensen, E. A., Watts, A. B. and Pope, C. W. *Effect of autoclaving in presence and absence of gossypol on solvent extracted cottonseed meal.* J. Agr. Food Chem. *2:* 82-826. 1954.

25. Baliga, B. P. and Lyman, C. M. *Preliminary report on the nutritional significance of bound gossypol in cottonseed meal.* J. Am. Oil Chemists' Soc. *34:* 21-24. 1957.

26. Martínez, W. H., Frampton, V. L. *Lysine content of cottonseed meals.* J. Agr. Food Chem. *6:* 312. 1958.

27. Conkerton, E. J. and Frampton, V. L. *Reaction of gossypol with free E. amino groups of Lysine in proteins.* Arch. Biochem. Biophys. *81:* 130-134. 1959.

28. Joonston, C. and Watts, A. B. *The chick feeding value of meals prepared from glandlees cottonseed.* Poult. Sci. *43:* 957-963. 1959.

29. Lyman, C. M., Baliga, B. P. and Slay, M. W. *Reactions of proteins with gossypol.* Arch Biochem. Biophys. *84:* 486-497. 1959.

30. Grau, C. R. *Protein concentrates as amino-acid sources for the chick: Corn gluten meal, cottonseed meal and peanut meal.* J. Nutrition. *32:* 303-312. 1946.

31. Richardson, L. R. and Blaylock, L. G. *Vitamin B^{12} and amino acid as supplements to soybean oil meal and cottonseed meal for growing chicks.* J. Nutrition. *40:* 169-176. 1950.

32. Lyman, C. M., Chang, W. Y. and Couch, J. R. *Evaluation of protein quality in cottonseed meals by chick growth and by chemical index method.* J. Nutrition. *49:* 679-690. 1953.

33. Kratzer, F. H., Davis, P. N., and Marshall, B. J. *Cottonseed meal in rations for starting poults, growing turkeys and turkey breeder hens.* Poult. Sci. *34:* 462-468. 1955.

34. Day, J. E. *Degossypolized cottonseed meal for turkey rations* Poult. Sci. *37:* 1294-1299. 1958.

35. Fisher, H. *Unrecognized amino acid deficiencies of cottonseed protein for the chick.* J. Nutrition. *87:* 9-12. 1965.

36. Ousterhout, L. E., Grau, C. R. and Lundholm, B. D. *Biological availability of amino acids in fish meals and other protein sources.* J. Nutrition. *69:* 65-73. 1959.

37. Patterson, E. L., Milstrey, R. A. and Jukes, T. H. *Arginine in the growth of chicks.* Poult. Sci. *40:* 459-467. 1961.

38. Ascarelli, I. and Gestetner, B. *Chemical and Biological evaluation of some protein feed for poultry.* J. Sci. Food Agric. *13:* 401-410. 1962.

39. Eagle, Eduard. *Some physiological effects of gossypol and cottonseed pigment glands. In:* Proccedings of the conference of the chemical structure and reactions of gossypol and non-gossypol pigments of cottonseed. New Orleans. La., Southern Regional Research Laboratory, March 19-20, 1959.

40. Dollear, Frank. *Utilization research relating to structure and reactions of gossypol.* Loc. Cit. 39. p. 17-26.

41. Heywang, B. W. and Vavich, M. G. *Discoloration in eggs from layers feed cottonseed meals made from glandless and glanded seed.* Poult. Sci. *44:* 84-89, 1965.

42. Kemmerer, A. R., Heywang, B. W., Nordby, H. E. and Phelps, A. R. *Effect of cottonseed oil on discoloration of cold storage eggs.* Poult. Sci. *41:* 1101-1103. 1962.

43. Schaible, P. J., Moore, L. A. and Moore, J. M. *Gossypol a cause of discoloration in egg yolks.* Science 79: 372. 1934.

44. Kemmerer, A. R., et al. *Effect of cottonseed oil in discoloration of cold storage eggs.* Loc. Cit. 42.

45. Phelps, R. A., Shenstone, F. S., Kemmerer, A. R. and Evans, R. J. *A review of ciclopropenoid compounds: Biological effects of some derivatives.* Poult. Sci. *40:* 358-393. 1965.

46. Kemerer, A. R. Heywang, B. W. and Vavich, M. G. *Effect of sterculia foetida oil on gossypol discoloration in cold storage eggs and the mechanism of gossypol discoloration.* Poult. Sci. *40:* 1045-48. 1965.

47. Schaible, P. J., et al. *Gossypol, a cause of discoloration in egg yolks. Loc. cit.* (43).

48. Woronick, C. L., and Grau, C. R. *Gossypol-cephalin compound from fresh eggs of hens feed cottonseed meal.* J. Agr. Food. Chem. *3:* 706-707. 1955.

49. Grau, C. R., Allen, E., Nagumo, M., Woronick, C. L. and Zweigart, P. A. *A distinctive yolk component in the fresh eggs of hens feed gossypol.* J. Agr. Food Chem. 2: 982-984. 1954.

50. Dechary, J. M., Wakabayashy, G. and Grau, R. *Incorporation of gossypol into eggs of hens feed gossypol schiff bases.* J. Am. Oil. Chem. *34:* 548-549. 1957.

51. Shenstone, F. S., and Vickery, J. R. *Susbtances in plants of the order malvale causing pink white in stored eggs.* Poult. Sci. *38:* 1055-1070. 1959.

52. Schaible, P. J., Bandemer, S. L. and Davidson, J. A. *Composition of fresh and storage eggs from hens feed cottonseed and non cottonseed rations. I. General observations.* Poult. Sci. *25:* 440-445. 1946.

53. Bandemer, S. L., Schaible, P. J. and Davidson, J. A. *Composition of fresh and storage eggs from hens feed cottonseed and non cottonseed rations. II. Ammonia nitrogen content.* Poult. Sci. *25:* 446-450. 1946.

54. Schaible, P. J. and Bandemer, S. L. *Composition of fresh and storage eggs from hens feed cottonseed and non cottonseed rations. III. Iron content.* Poult Sci. *25:* 451-452. 1946.

55. Azary, P. R. and Feeney, R. E. *The resistances of conalbumin and its iron complex to physical and chemical treatments.* Arch. Biochem. Biophys. *92:* 44-52. 1961.

56. Van Tienhoven, A., Hill, F. W., Prock, A. and Baker, R. C. *The effect of nicarbazin on yolk quality.* Poult. Sci. *37:* 129-132. 1958.

57. Kemmerer, A. R., Heywang, B. W., Vavich, M. G., and Phelps, R. A. *Further studies of the effect of cottonseed oil on discoloration storage eggs.* Poult. Sci. *42:* 893-895. 1963.

58. Schneider, D. *Effect of oleic acid on the delay of sexual maturity in chickens caused by sterculia foetida oil.* Poult. Sci. *41:* 1005-1007. 1962.

59. Schneider, D. L., Vavich, M. G., Kurnick, A. A. and Kemmerer, A. R. *Effect of sterculia foetida oil on mortality of the chick embryo.* Poult. Sci. *40.* 1644-1647. 1961.

60. Schneider, D. L., Kurnick, A. A., Vavich, M. G. and Kemmerer, A. R. *Delay of sexual maturity in chickens by sterculia foetida oil.* J. Nutrition *77:* 403-407. 1962.

61. Reiser, R. *Fatty acid changes in egg yolk of hens on a fat-free and a cottonseed oil ration.* J. Nutrition *40:* 429-439. 1950.

62. Naber, E. C. and Morgan, C. L. *Studies on a hatchability depressing factor in cottonseed oil.* Poult. Sci. *36:* 429-431. 1957.

63. Gallup, W. D. *The value of iron salts in counteracting the effects of gossypol.* J. Biol. Chem. *77:* 437-449. 1928.

64. Fletcher, J. L., Barrentine, B. I., Dressen, L. J., Hill J. E. and Shawver, C. B. *The use of ferrous sulphate to inactivate gossypol in diets of laying hens.* Poult. Sci. *32:* 740-742. 1952.

65. Heywang, B. W. *Failure of ferrous sulphate to incactivate free gossypol in diets for laying chickens.* Poult. Sci. *36:* 715-718. 1957.

66. Clawson, A. J., Smith, F. H. and Barrick, E. R. *Acumulation of gossypol in the liver and factors influencing the toxicity of injected gossypol.* J. Animal Sci. *21:* 911-915. 1962.

67. Kemmerer, A. R., Heywang, B. W., Vavich, M. G. and Sheehan, E. T. *Effect of iron supplementation on egg discoloration caused by gossypol.* Poult. Sci. *45:* 1025-1028. 1966.

68. Phelps, R. A. *Use of iron salts to counteract gossypol in cottonseed meal.* Reprinted from feedstuffs of May 7. 1966.

69. Bressani, R., Elías, L. G., Jarquín, R. and Braham, J. E. *All vegetable protein mixture for human feeding. XIII. Effect of cooking mixture containing cottonseed flour of free gossypol content.* Food Technology *18:* 1599. 1964.

70. Grau, C. R., Lau, T. L. and Woronick, C. L. *Inactivation of gossypol by treatment with phloroglucinol.* J. Agr. Food Chem. *3:* 864. 1955.

71. A. O. A. C. *Official methods of analysis of the association of official agricultural chemists.* 7th edition, Washington, D. C. 1950.

72. A. O. C. S. *Official and tentative methods of the american oil chemist's society, 2nd ed.* Chicago, 1945-1950.

73. A. O. A. C. *Biological evaluation of protein quality.* 9th ed. 1960.

74. Cannan, R. K. *Proposal for a certified standard for use in hemoglobinometry.* Clin. Chem. *4:* 246. 1958.

75. Lowry, O. H., Hunter, T. H. *The determination of serum protein concentration with a gradient tube.* J. Biol. Chem. *159:* 465-474. 1945.

76. National Research Council. *Nutrient requirements for poultry.* Washington, D. C., National Academy of Science-National Research Council, 1954. 27 p. (Publication 301).

77. Braham, J. E., Jarquín, R., Elías, L. G., González, M., and Bressani, R. *Effect of calcium and gossypol on the performance of swine and on certain enzymes and other blood constituents.* J. Nutrition *91:* 47-54. 1967.

78. Smith, F. H. *Isolation of gossypol from tissue of procine livers.* J. Am. Oil. Chem. Soc. *40:* 60-61. 1963.

CUADRO No. 1

COMPOSICION QUIMICA DE LA HARINA DE SEMILLA DE ALGODON

Agua	7.0	g %
Extracto etér	2.5	"
Fibra cruda	6.0	"
Proteína (N x 6.25)	34.88	"
Ceniza	6.08	"
Carbohidratos1	43.54	"
Gosipol libre	0.131	"
Gosipol total	1.244	"
Epsilon-amino lisina/16 g N	2.69	g/16 g de N
Nitrógeno soluble en NaOH	76.34	g %

1) Calculados por diferencia.

CUADRO No. 2

COMPOSICION DE LAS RACIONES USADAS PARA ALIMENTAR POLLAS — PRIMERA ETAPA DEL ESTUDIO

(expresada en términos de porcentaje)

Ingredientes	Grupos											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Harina de soya[1]	35.00	35.00	35.00	35.00	17.50	17.50	17.50	17.50	——	——	——	——
Harina de semillade algodón	——	——	——	——	25.00	25.00	25.00	25.00	50.00	50.00	50.00	50.00
Maíz amarillo molido	55.55	55.05	55.45	54.95	47.95	47.45	47.85	47.35	40.35	39.85	40.25	39.75
Harina de alfalfa	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Hueso molido	2.25	2.25	2.25	2.25	2.25	2.25	2.25	2.25	2.25	2.25	2.25	2.25
Carbonato de calcio	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
Cloruro de sodio	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Vitamina[2]	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Lisina (clorhidrato)	——	——	——	——	0.10	0.10	0.10	0.10	0.20	0.20	0.20	0.20
Hidróxido de calcio	——	0.50	——	0.50	——	0.50	——	0.50	——	0.50	——	0.50
$FeSO_4$. $7H_2O$	——	——	0.10	0.10	——	——	0.10	0.10	——	——	0.10	0.10
Totales	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

1) General Mills, Minneapolis, Minn., EE.UU.

2) N. V. Philips-Duphar, Amsterdam, Holanda.

CUADRO No. 3

Composición de las Raciones usadas para alimentar Gallinas - Segunda etapa del Estudio

(expresada en términos de porcentaje)

Ingredientes	Grupos											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Harina de soya[1]	23.00	23.00	23.00	23.00	11.50	11.50	11.50	11.50	——	——	——	——
Harina de semilla de algodón	——	——	——	——	14.50	14.50	14.50	14.50	33.00	33.00	33.00	33.00
Maiz amarillo molido	67.55	67.05	67.45	66.95	64.45	63.95	64.35	63.85	57.35	56.85	57.25	56.75
Harina de alfalfa	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Hueso molido	2.25	2.25	2.25	2.25	2.25	2.25	2.25	2.25	2.25	2.25	2.25	2.25
Carbonato de calcio	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
Cloruro de sodio	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Vitamina[2]	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Lisina (clorhidrato)	——	——	——	——	0.10	0.10	0.10	0.10	0.20	0.20	0.20	0.20
Hidróxido de calcio	——	0.50	——	0.50	——	0.50	——	0.50	——	0.50	——	0.50
$FeSO_4 . 7H_2O$	——	——	0.10	0.10	——	——	0.10	0.10	——	——	0.10	0.10
Totales	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

1) General Mills, Minneapolis, Minn., EE.UU.

2) N. V. Philips-Duphar, Amsterdam, Holanda.

CUADRO No. 4

Composición de las raciones usadas en la Alimentación de las Ratas incluidas en la Investigación

(expresada en términos de porcentaje)

Ingredientes	Grupos						
	1	2	3	4	5	6	7
Harina de huevo[1]	23.47	23.04	21.88	22.03	19.27	21.42	20.53
Minerales[2]	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Aceite de hígado de bacalao	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Almidón de maíz	71.53	71.96	73.12	72.97	75.73	73.58	74.47
Totales	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Solución de vitaminas/ml[3]	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00

1) Preparada de huevos producidos por las gallinas de los grupos: 1-4, 5, 7 y 8 (véase Cuadros Nos. 3 y 8).

2) Mezcla de minerales Hegsted.

3) Manna & Hauge.

CUADRO No. 5

Resultado del Análisis Químico de las Raciones Administradas a Pollas

Ración No.	Humedad g %	Extracto etéreo g%	Fibra cruda g %	Nitrógeno g %	Proteína [1] g %	Ceniza g %	Gosipol Libre g %	Gosipol Total g %	Epsilon-amino lisina g %	Epsilon-amino lisina g/16 g N
1	11.8	3.1	4.4	3.1	19.6	6.2	——	——	0.85	4.39
2	11.3	2 3	4.4	3.1	19.6	6.1	——	——	0.96	4.95
3	11.2	3.3	3.9	3.3	20.6	6.4	——	——	0.94	4.56
4	11.0	2.3	4.3	3.2	20.1	6.0	——	——	0.87	4.35
5	11.3	3.6	6.3	3.4	21.6	6.7	0.053	0.276	0.86	4.05
6	11.0	3.3	6.7	3.5	22.0	7.1	0.061	0.299	0.89	4.07
7	11.2	3.9	6.8	3.4	21.1	7.1	0.048	0.260	0.74	3.48
8	11.2	2.8	6.4	3.7	23.1	6.8	0.051	0.291	0.71	3.07
9	11.4	3.3	9.5	3.5	22.0	6.9	0.102	0.514	0.67	3.06
10	10.7	3.0	9.7	3.5	21.8	7.5	0.108	0.492	0.61	2.79
11	11.3	3.3	10.2	3.4	21.3	7.1	0.123	0.485	0.59	2.78
12	10.2	3.7	10.5	3.5	22.1	7.3	0.095	0.511	0.64	2.93

1) Proteína = N x 6.25.

CUADRO No. 6

Resultados del Análisis de las Raciones Administradas a las Gallinas

Segunda etapa del Estudio

Ración No.	Humedad g %	Extracto etéreo g %	Fibra cruda g %	Nitrógeno g %	Proteína[1] g %	Ceniza g %	Gosipol Libre	Gosipol total	Epsilon-amino lisina g %	Lisina g/16 g N.
1	12.4	3.5	4.0	2.4	14.9	5.5	——	——	0.632	4.04
2	11.8	3.3	4.3	2.5	15.8	4.2	——	——	0.632	4.04
3	12.6	3.7	3.9	2.7	16.9	5.9	——	——	0.632	4.04
4	11.6	2.9	4.7	2.7	17.1	8.2	——	——	0.632	4.04
5	11.7	4.1	6.1	2.7	16.6	5.9	0.033	0.148	0.652	3.72
6	11.5	3.0	5.3	2.8	17.8	7.0	0.035	0.114	0.652	3.72
7	11.7	4.0	5.2	2.8	17.5	6.5	0.030	0.089	0.652	3.72
8	11.6	2.6	5.5	2.8	17.8	7.5	0.033	0.092	0.652	3.72
9	11.2	4.4	7.6	2.8	17.5	7.0	0.063	0.330	0.518	2.96
10	14.6	4.0	8.5	2.8	17.5	7.5	0.068	0.318	0.518	2.96
11	11.4	4.5	7.6	2.9	18.4	5.5	0.056	0.282	0.518	2.96
12	11.2	3.1	7.4	3.0	18.9	7.2	0.053	0.235	0.518	2.96

1 Proteína = N × 6.25.

CUADRO No. 7

Eficiencia del Alimento, Parálisis y Mortalidad en Pollas en Proceso de Crecimiento

Ración	Tratamiento	Promedio de ganancia ponderal [2] g	Alimento consumido g	Eficiencia del alimento[3]	P/V[4]	Mortalidad
1	Soya	893	2940	3.3	0/20	0
2	Soya + calcio	895	2878	3.2	0/20	0
3	Soya + hierro	836	2828	3.4	0/20	0
4	Soya + calcio + hierro	915	3184	3.5	0/20	0
5	25% H. S. A.[1]	266	1461	5.4	10/17	3
6	25% H. S. A. + calcio	411	1822	4.4	7/17	3
7	25% H. S. A. + hierro	488	1821	3.7	5/19	1
8	25% H. S. A. + hierro + calcio	450	1892	4.2	4/16	4
9	50% H. S. A.	145	1152	7.9	4/5	15
10	50% H. S. A. + calcio	179	1235	6.9	1/5	15
11	50% H. S. A. + hierro	276	1474	5.3	2/11	9
12	50% H. S. A. + calcio + hierro	289	1572	5.4	7/11	9

1 Harina de semilla de algodón.

2 Veinte animales por grupo con un peso promedio inicial de 71.6 g.

3 Eficiencia del alimento: g de alimento consumido/g de aumento de peso.

4 P/V = Paralíticas/Vivas.

CUADRO No. 8

ALIMENTO CONSUMIDO. PRODUCCION DE HUEVOS Y MORTALIDAD EN LAS GALLINAS

	Tratamiento	Ali mento cons umido g	Semanas de edad Grupos 2		4		6		8		10		12		14		Total de hue- vos/gru- po	Morta- lidad
			$\bar{x}$	PN/V	$\bar{x}$	PN/V	$\bar{x}$	PN/V	$\bar{x}$	PN/V	$\bar{x}$	PN/V	$\bar{x}$	PN/V	$\bar{x}$	PN/V		
1	Soya	11452	6	5/5	6	5/5	3	3/5	6	5/5	7	5/5	9	5/5	6	4/5	220	0
2	Soya + Ca	11891	11	5/5	11	5/5	9	5/5	9	4/4	10	3/3	10	3/3	11	2/3	258	2
3	Soya + Fe	10326	9	5/5	9	5/5	8	5/5	8	5/5	8	4/4	7	3/3	6	3/3	249	2
4	Soya + Ca + Fe	11552	10	5/5	10	5/5	9	5/5	11	5/5	10	5/5	9	5/5	8	5/5	349	0
5	14.5% H.S.A.*	9822	4	2/5	7	2/5	4	2/5	5	2/3	3	2/2	2	2/2	2	2/2	55	3
6	14.5% H.S.A. + Ca	6218	2	1/5	0	0/4	0	0/4	4	1/4	3	1/4	2	1/4	1	1/4	14	1
7	14.5% H.S.A. + Fe	8463	8	2/5	8	3/5	7	3/4	9	3/4	7	3/4	4	2/4	3	2/4	123	1
8	14.5% H.S.A. + Ca + Fe	10857	5	2/5	11	4/5	9	4/5	8	4/5	8	4/5	7	5/5	6	4/5	219	0
9	33% H.S.A.	5155	0	0/4	4	1/4	0	0/4	0	0/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3	4	2
10	33% H.S.A. + Ca	5641	0	0/5	0	0/4	0	0/4	0	0/4	0	0/3	0	0/2	0	0/2	0	3
11	33% H.S.A. + Fe	6502	0	0/4	0	0/4	0	0/4	3	1/4	4	1/4	4	1/4	2	1/4	23	1
12	33% H.S.A. + Ca + Fe	5240	0	0/5	0	0/5	0	0/4	0	0/3	0	0/2	0	0/2	0	0/2	0	3

$\bar{x}$ = Promedio de postura/gallina/2 semanas.

PN/V = Penedoras/gallinas vivas.

* H.S.A. = Harina de semilla de algodón.

CUADRO No. 9

INDICE DE EFICIENCIA PROTEICA EN RATAS ALIMENTADAS CON HARINA DE HUEVOS DE GALLINA[1]

gru-pos[2]	Huevos provenientes de tratamiento[1]	Proteína en la Ración	Peso promedio Final	Ganado	Proteína Consumida	IEP[4]
		g%	g	g	g	
1	Soya	12.4	215	171	51.21	3.34
2	Soya + Ca	12.0	219	175	51.72	3.38
3	Soya + Fe	11.6	219	175	51.32	3.41
4	Soya + Ca + Fe	11.4	214	170	48.50	3.50
5[3]	14.5% H.S.A.[5]	11.4	156	112	34.09	3.28
6	14.5% H.S.A. + Fe	11.8	214	170	53.46	3.18
7	14.5% H.S.A. + Fe + Ca	11.9	228	184	55.55	3.31

1) Harinas de huevos obtenidos de gallinas sometidas a los tratamientos indicados (Cuadro No. 8).

2) Seis ratas por grupo (3 y 3), con un peso promedio inicial de 44 g.

3) El estudio para este grupo duró sólo 21 días, pues la harina de huevos del grupo de gallinas No. 5, no era suficiente.

4) IEP = g de aumento de peso/g de proteína consumida (durante 28 días).

5) Harina de semilla de algodón.

No. 10

DETERMINACIONES DE HEMOGLOBINA Y PROTEINA SERICA EN POLLAS

Ración	Tratamiento	Hemoglobina g/100 ml de sangre	Proteínas séricas totales g/100 ml
1	Soya	7.8 ± 1.6	3.87 ± 0.39
2	Soya + Ca	7.9 ± 1.5	4.14 ± 0.30
3	Soya + Fe	8.2 ± 1.9	3.76 ± 0.40
4	Soya + Ca + Fe	9.4 ± 0.2	3.94 ± 0.26
5	25% H.S.A.*	7.0 ± 1.8	3.38 ± 0.35
6	25% H.S.A. + Ca	6.0 ± 0.7	3.84 ± 0.64
7	25% H.S.A. + Fe	7.3 ± 0.5	4.20 ± 0.94
8	25% H.S.A. + Ca + Fe	7.8 ± 0.8	4.22 ± 0.44
9	50% H.S.A.	5.6 ± 1.5	—** —
10	50% H.S.A. + Ca	5.2 ± —	3.55 ± 0.53
11	50% H.S.A. + Fe	6.0 ± 1.3	3.99 ± 0.46
12	50% H.S.A. + Ca + Fe	8.2 ± 1.0	3.07 ± 0.41

* Harina de semilla de algodón.

** No se hizo determinación por haberse coagulado el suero.

CUADRO No. 11

COMPOSICION QUIMICA DE HUESOS DE POLLAS

Ración	Tratamiento	g/100 g, base fresca			
		Humedad	Extracto etéreo	Ceniza	Proteína
1	Soya	34.7 ± 7.6	18.1 ± 8.6	26.9 ± 4.1	16.2 ± 2.5
2	Soya + Ca	36.7 ± 7.5	14.3 ± 7.7	26.7 ± 4.0	16.3 ± 2.3
3	Soya + Fe	36.7 ± 4.5	15.8 ± 5.6	25.1 ± 1.3	17.7 ± 1.7
4	Soya + Ca + Fe	34.4 ± 7.4	18.8 ± 8.3	26.4 ± 3.5	15.9 ± 1.9
5	25% H.S.A.*	50.2 ± 6.6**	3.0 ± 3.2**	24.1 ± 3.6	19.6 ± 2.7
6	25% H.S.A. + Ca	45.4 ± 6.6**	7.3 ± 7.6**	24.8 ± 1.9	19.4 ± 2.4
7	25% H.S.A. + Fe	49.1 ± 8.3**	6.1 ± 7.3**	23.6 ± 7.3	19.3 ± 3.4
8	25% H.S.A. + Ca + Fe	47.5 ± 5.2**	5.4 ± 5.1**	26.7 ± 5.9	18.9 ± 2.8
9	50% H.S.A.	——*** —	— —	— —	— —
10	50% H.S.A. + Ca	50.5 ± 1.8**	1.4 ± 0.6**	25.6 ± 2.4	24.4 ± 4,5
11	50% H.S.A. + Fe	51.6 ± 2.2**	0.7 ± 0.4**	25.7 ± 2.7	21.8 ± 2.4
12	50% H.S.A. + Ca + Fe	44.5 ± 2.5**	4.2 ± 2.5**	28.5 ± 1.4	20.0 ± 2.6

* Harina de semilla de algodón.

** Diferencias altamente significativas ($P > 0.01$) entre el grupo control (soya) y el experimental.

*** No se hicieron determinaciones en este grupo por falta de material.

CUADRO No. 11

COMPOSICION QUIMICA DE HUESOS DE POLLAS

Ración	Tratamiento	g/100 g, base fresca			
		Humedad	Extracto etéreo	Ceniza	Proteína
1	Soya	34.7 ± 7.6	18.1 ± 8.6	26.9 ± 4.1	16.2 ± 2.5
2	Soya + Ca	36.7 ± 7.5	14.3 ± 7.7	26.7 ± 4.0	16.3 ± 2.3
3	Soya + Fe	36.7 ± 4.5	15.8 ± 5.6	25.1 ± 1.3	17.7 ± 1.7
4	Soya + Ca + Fe	34.4 ± 7.4	18.8 ± 8.3	26.4 ± 3.5	15.9 ± 1.9
5	25% H.S.A.*	50.2 ± 6.6**	3.0 ± 3.2**	24.1 ± 3.6	19.6 ± 2.7
6	25% H.S.A. + Ca	45.4 ± 6.6**	7.3 ± 7.6**	24.8 ± 1.9	19.4 ± 2.4
7	25% H.S.A. + Fe	49.1 ± 8.3**	6.1 ± 7.3**	23.6 ± 7.3	19.3 ± 3.4
8	25% H.S.A. + Ca + Fe	47.5 ± 5.2**	5.4 ± 5.1**	26.7 ± 5.9	18.9 ± 2.8
9	50% H.S.A.	——*** —	— —	— —	— —
10	50% H.S.A. + Ca	50.5 ± 1.8**	1.4 ± 0.6**	25.6 ± 2.4	24.4 ± 4,5
11	50% H.S.A. + Fe	51.6 ± 2.2**	0.7 ± 0.4**	25.7 ± 2.7	21.8 ± 2.4
12	50% H.S.A. + Ca + Fe	44.5 ± 2.5**	4.2 ± 2.5**	28.5 ± 1.4	20.0 ± 2.6

* Harina de semilla de algodón.

** Diferencias altamente significativas ($P > 0.01$) entre el grupo control (soya) y el experimental.

*** No se hicieron determinaciones en este grupo por falta de material.

CUADRO No. 12

DETERMINACIONES DE HUMEDAD Y GRASA EN HIGADO DE POLLAS

Ración	Tratamiento	Base fresca g/100 g	
		Humedad	Extracto etéreo
1	Soya	72.9 ± 1.7	4.4 ± 2.5
2	Soya + Ca	72.3 ± 2.7	5.1 ± 3.2
3	Soya + Fe	71.0 ± 1.3	4.2 ± 1.2
4	Soya + Ca + Fe	71.5 ± 2.8	4.6 ± 2.7
5	25% H.S.A.*	71.6 ± 1.6	4.2 ± 2.5
6	25% H.S.A. + Ca	70.4 ± 4.4	4.4 ± 2.0
7	25% H.S.A. + Fe	70.8 ± 2.4	4.2 ± 3.1
8	25% H.S.A. + Ca + Fe	71.7 ± 1.6	4.4 ± 3.2
9	50% H.S.A.	——**	— —
10	50% H.S.A. + Ca	72.5 ± 1.6	4.0 ± 1.1
11	50% H.S.A. + Fe	71.9 ± 1.2	3.9 ± 3.0
12	50% H.S.A. + Ca + Fe	71.1 ± 1.4	3.0 ± 2.2

* Harina de Semilla de Algodón.

** No se hicieron determinaciones por falta de material.

CUADRO No. 13

EVALUACION VISUAL DEL COLOR EN HUEVOS DE GALLINA

Ración No.	Tratamiento	% de yemas de huevo correspondientes a la escala de coloración*					% color rosado en la clara
		0	1	2	3	4	
1	Soya	100	—	—	—	—	—
2	Soya + Ca	100	—	—	—	—	—
3	Soya + Fe	100	—	—	—	—	—
4	Soya + Ca + Fe	100	—	—	—	—	—
5	14.5% H.S.A.**	0	9	46	17	28	—***
6	14.5% H.S.A. + Ca	—	—	—	14	86	43
7	14.5% H.S.A. + Fe	—	—	12	38	50	—
8	14.5%H.S.A. + Ca + Fe	—	—	25	25	50	—
9	33% H.S.A.	—	—	—	67	33	33
11	33% H.S.A. + Ca	—	—	—	26	74	37

* Escala de coloración: 4 = yemas más intensamente coloreadas; 0 = yemas normales.

** Harina de semilla de algodón.

*** No se evaluó el color rosado en la clara por haberse hecho la evaluación en huevos cocidos.

CUADRO No. 14

EFECTO DE LA ADICION DE VARIOS NIVELES DE $FeSO_4.7H_2O$ y de $Ca(OH)_2$ EN EL GOSIPOL LIBRE DE 3 HARINAS DE SEMILLA DE ALGODON'

(expresado en g/100 g)

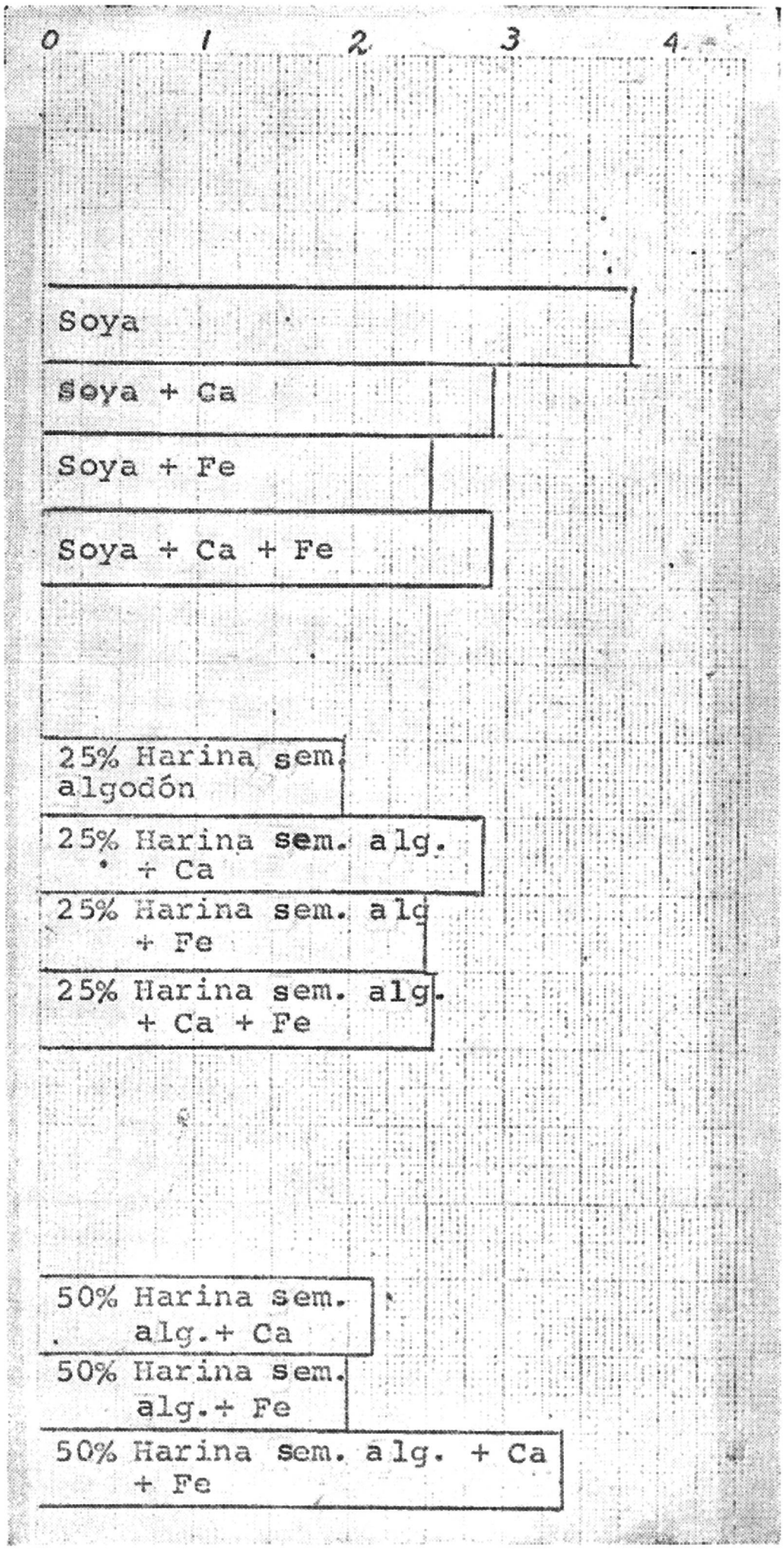
$Ca(OH)_2$	$FeSO_4.7H_2O$								
	0	0.05	0.1	0	0.05	0.1	0	0.1	0.05
0	32	29	25	56	53	50	128	127	128
0.5	32	31	30	55	50	28	114	114	114
1.0	35	34	29	32	30	30	107	121	124

1) Porcentaje en base al peso de harina de semilla de algodón.

GRAFICA 1

DESHIDROGENASA SUCCINICA EN HIGADO DE POLLAS

mg de Formazán por g de hígado



GRAFICA 2

TRANSAMINASA GLUTAMICA OXALACETICA EN HIGADO DE POLLAS

mg de ácido pirúvico formado en
30 minutos por g de hígado fresco

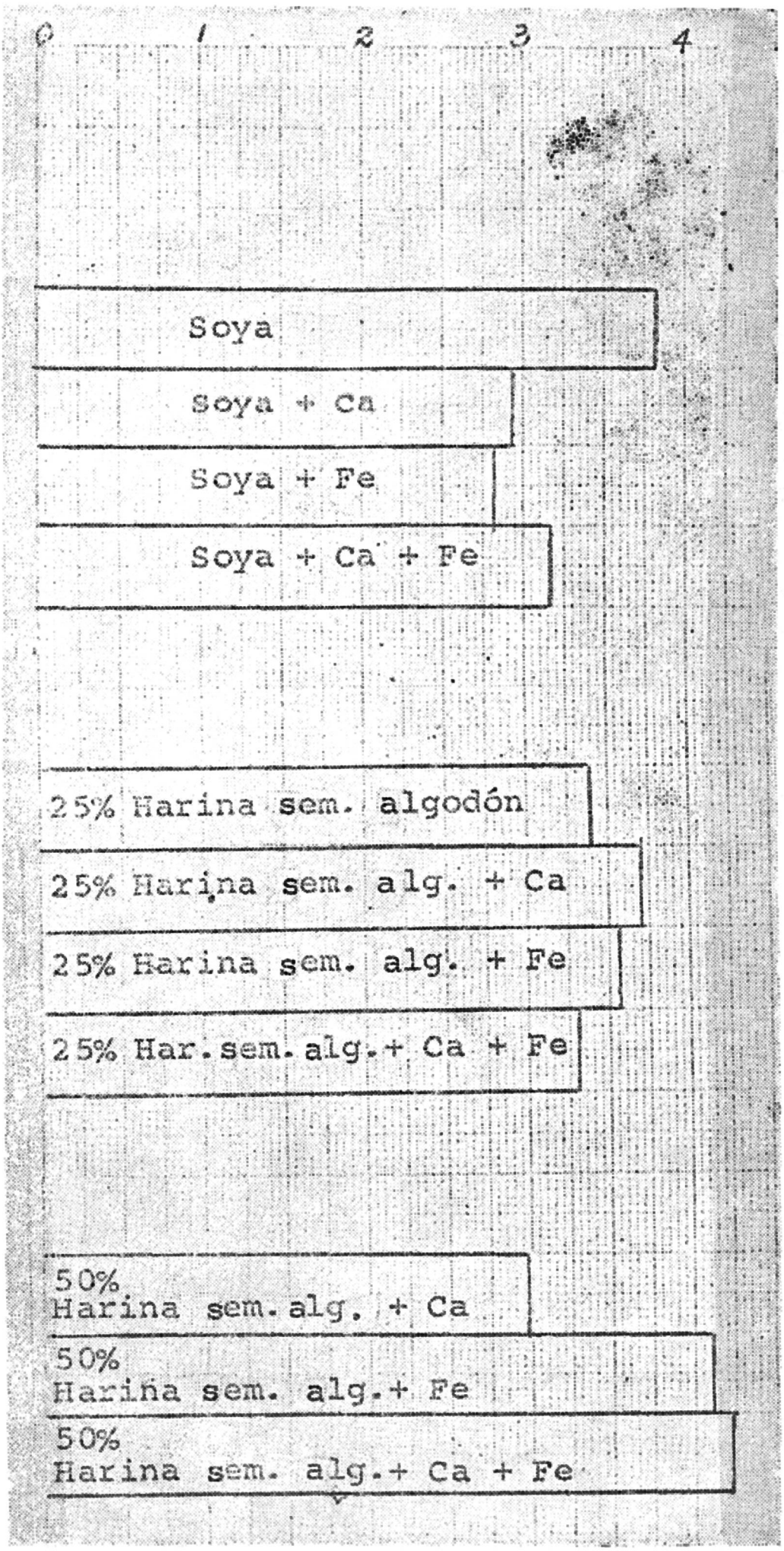


FIGURA 1

PARALISIS POR DEFICIENCIA DE RIBOFLAVINA
EN UNA POLLA DEL GRUPO No. 11

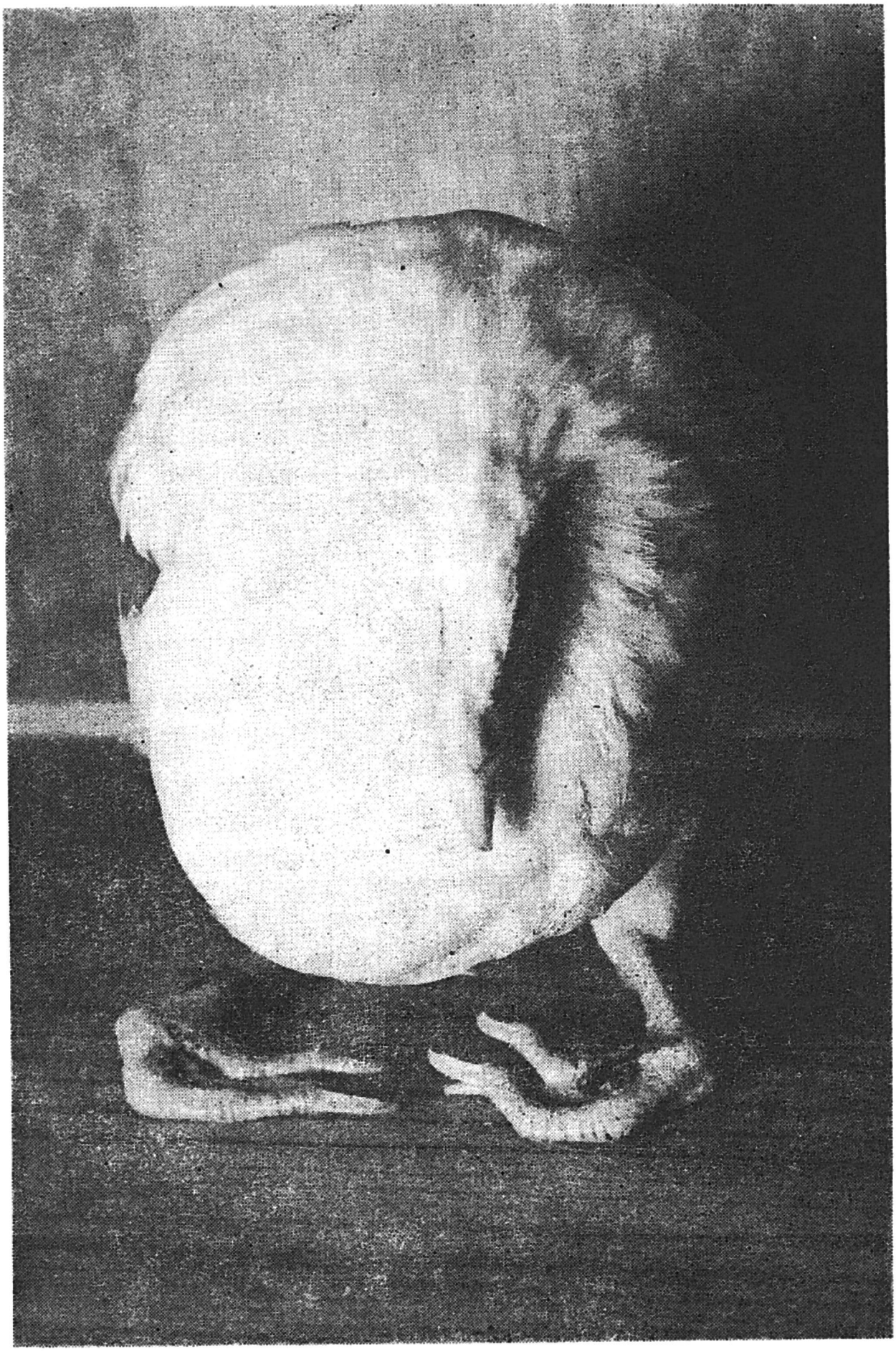
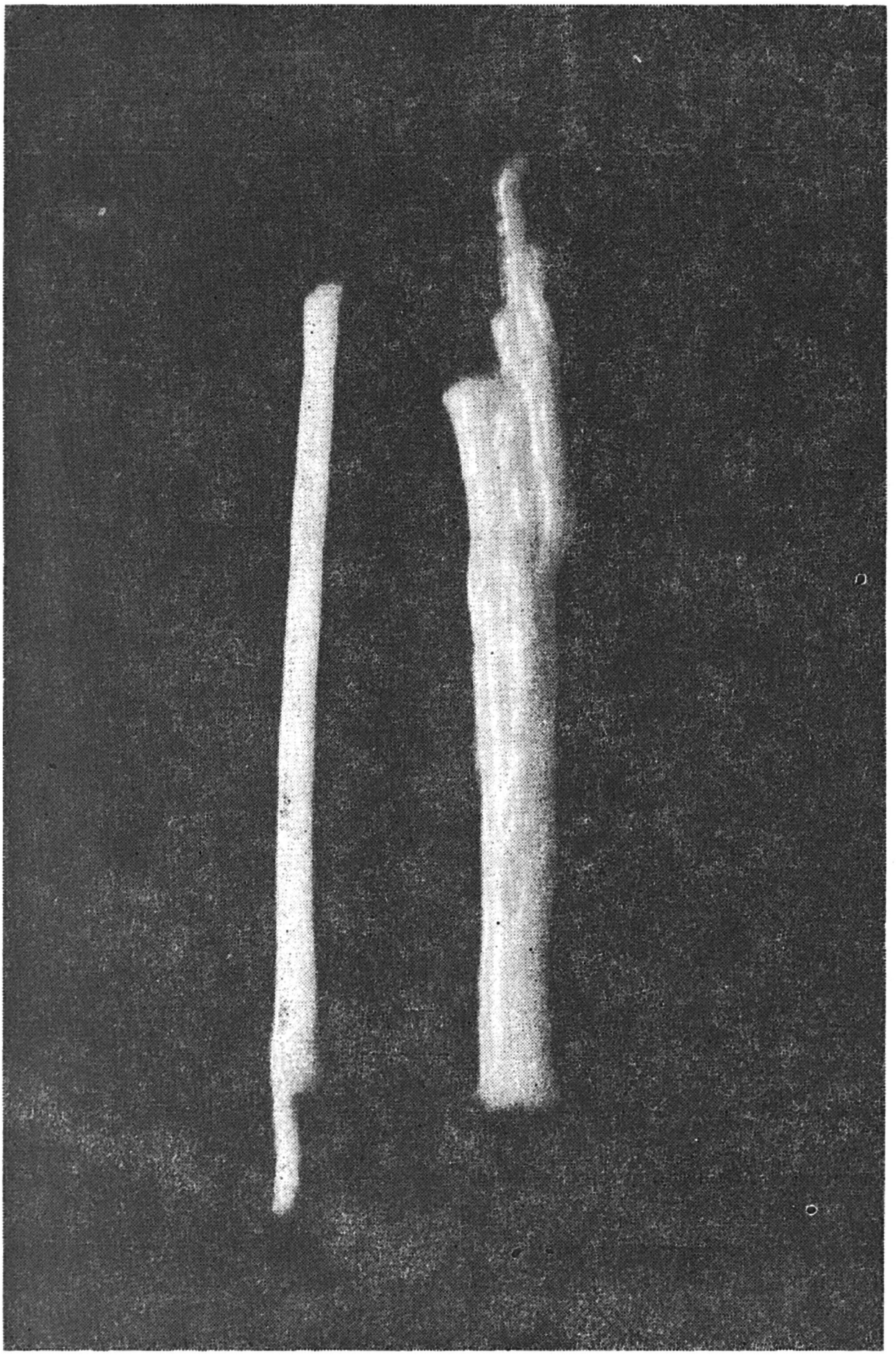


FIGURA 2

NERVIO CIATICO. A LA IZQUIERDA, DE UNA POLLA NORMAL Y A LA DERECHA, DE OTRA QUE PRESENTABA PARALISIS.