

DETERMINACION DE GOSIPOL EN SEMILLAS DE ALGODON, TORTAS Y CONCENTRADOS A BASE DE SEMILLAS DE ALGODON

Resumen del trabajo de Tesis presentado por
LAURA O. GUTIÉRREZ D. para optar al título de
Químico - Farmacéutico.

Presidente de Tesis: DR. ISIDORO DEL RÍO L.

INTRODUCCION

En esta época, la tecnología se está preocupando cada vez más, no solo en mejorar la calidad de los productos destinados a la nutrición humana y animal, sino también en disminuir su costo, ya que los problemas nutricionales afectan más comúnmente a las áreas menos favorecidas económicamente. Es por ello que se ha llamado la atención, hacia las semillas de algodón y más específicamente hacia los productos que de ellas se derivan tales como el aceite y la torta.

La semilla de algodón es un producto de bajo costo ya que es un subproducto en la industria de la fibra de algodón, tiene un alto contenido en proteínas aprovechables fisiológicamente y ha resultado ser un excelente suplemento alimenticio (la torta contiene un 40% de proteínas y un 7% de grasa).

En estos productos donde priman las ventajas, la principal preocupación ha sido disminuir el problema de índole toxicológico (gosipol) presente en ellos y que ha sido el único inconveniente para que su uso se haya extendido más ampliamente.

El propósito de este trabajo de investigación es contribuir al estudio toxicológico de estos productos en Colombia, con el fin de encontrar hasta qué punto podría la tecnología disminuir el porcentaje de gosipol en ellos y por lo tanto disminuir también su pe-

ligrosidad. Parte del trabajo es de tipo informativo (concentrados y tortas) y el resto puramente investigativa, pues el contenido de gosipol en semillas de algodón de procedencia nacional, no había sido realizado hasta la fecha. Esto lo consideramos de suma importancia, pues partiendo de semillas con bajo contenido en gosipol, éstas o sus subproductos serían mejor aprovechados.

MATERIALES Y METODOS

Hemos creido conveniente el hacer una revisión de los estudios realizados sobre el gosipol en diversos aspectos, con la finalidad de resaltar el interés del presente estudio y justificar así su importancia.

El material utilizado en la presente investigación es esencialmente el mismo que han empleado investigadores de otros países, pero este material —semillas, tortas y concentrados— en nuestro caso, es de procedencia nacional, sobre el cual se desconoce todo, a excepción de que resulta ser tóxico.

Los métodos utilizados para el estudio del contenido en gosipol de los productos antes mencionados han sido elegidos teniendo en cuenta su simplicidad y exactitud.

MATERIALES

Como dijimos anteriormente, el análisis del contenido en gosipol se realizó sobre muestras de semillas de algodón, tortas y concentrados a base de semillas de algodón de origen nacional. Se analizaron un total de 90 muestras repartidas así:

- 21 Muestras de semillas de algodón.
- 26 Muestras de tortas de semillas de algodón.
- 43 Muestras de concentrados, que además de otros componentes, contenían tortas de semillas de algodón.

METODOS

Como las estimaciones de gosipol se hicieron sobre diversos productos y subproductos de semillas de algodón, los métodos utilizados fueron los que se consideraron más idóneos para cada caso.

METODO 1.

El escogido por nosotros es el método oficial de la American Oil Chemists Society "Official and Tentative Methods" (1958), para la determinación del gosipol libre, total y combinado, en semillas de algodón y sus tortas, el cual no sirve para concentrados:

Para comprender mejor este método, creemos necesario aclarar algunas definiciones:

Gosipol libre, es aquel que se puede extraer con acetona al 70% en agua.

Gosipol total, es la cantidad de gosipol libre, más la cantidad de gosipol combinado, extraído después de la hidrólisis.

Gosipol combinado, es la porción no extractable directamente con solución de acetona al 70%, pero sí extractable después de su hidrólisis con ácido oxálico. El gosipol combinado se determina mediante la diferencia entre los valores obtenidos para gosipol total y para gosipol libre.

METODO 2.

Este método fue propuesto por Pons y Hoffpauir (1957), quienes comprobaron que el método anteriormente descrito, no era satisfactorio cuando se trataba de analizar alimentos concentrados que además de tortas de semillas de algodón, tenían otros componentes (torta de soya, harina de pescado, torta de maíz, . . . etc.). La extracción en acetona acuosa resulta inadecuada en este caso, para la determinación de gosipol libre, ya que la extracción de algunos constituyentes del alimento, causan interferencia en la lectura espectrofotométrica. Por este método, el gosipol libre se extrae con una mezcla de isopropanol - hexano - agua que contiene una pequeña cantidad de 3 - amino - 1 - propanol neutralizado con ácido acético. El 3 - amino - propanol neutralizado, reacciona con el gosipol para formar un complejo, el cual se convierte totalmente a dianilinogosipol, por una reacción subsiguiente con anilina. El dianilinogosipol sirve como base para la determinación espectrofotométrica.

Para la extracción del gosipol total del alimento, se utiliza el 3 - amino - 1 - propanol disuelto en dimetil - formamida, con el fin de evitar la destrucción del gosipol durante su extracción. Esta solución es tratada luego con anilina, para obtener dianilinogosipol.

RESULTADOS

A) Contenido de gosipol libre y total en semillas de algodón y en tortas de semillas de algodón.

Los análisis para el estudio del contenido de gosipol en tortas y semillas de algodón se realizaron siguiendo el método I. Previamente se elaboraron las curvas de calibración correspondientes.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

*Contenido en gramos
por ciento (valores límites)*

Gosipol en semillas:

Gosipol libre	1,03 - 1,4
Gosipol total	1,14 - 1,72
Gosipol combinado	0,02 - 0,41

Gosipol en tortas:

Gosipol libre	0,02 - 0,57
Gosipol total	0,11 - 1,65
Gosipol combinado	0,08 - 0,93

B) Contenido de gosipol libre y total en concentrados.

Para concentrados alimenticios, que además de semillas de algodón contienen otros muchos ingredientes, se utilizó el método II, previa elaboración de las curvas de calibración.

Se obtuvieron los siguientes resultados:

Gosipol libre	0,0 - 0,038
Gosipol total	0,0 - 0,2
Gosipol combinado	0,0 - 0,16

DISCUSION

Los resultados obtenidos en lo que se refiere al contenido de gosipol en semillas de algodón analizadas en el presente trabajo, exceden un poco de los obtenidos por Schwartz y Alsberg (1923), pero están de acuerdo con las cifras obtenidas en un estudio simi-

lar hecho por Pons et al. (1953). Estos investigadores encontraron en semillas de algodón, un contenido de gosipol total de 0.39 - 1.70%. En el presente trabajo se obtuvo un valor promedio del contenido de gosipol de diferentes variedades de semillas de algodón (figura 5), que está incluido en el intervalo anteriormente mencionado (valor medio 1.38%, con valores extremos de 1.14% a 1.72%).

Los valores encontrados están también de acuerdo con la conclusión a que llegaron estos mismos autores de que el contenido en gosipol es diferente según la variedad de la semilla de algodón y el sitio de cultivo.

El valor promedio del contenido en gosipol libre de las tortas analizadas fue de 0.085% y el de gosipol total 0.283%. Estos valores no están totalmente de acuerdo con los obtenidos por Hassan et al. (1965) puesto que estos autores encontraron promedios de 1.05% para gosipol libre y 1.81% para gosipol total. Por otra parte, el alto porcentaje de gosipol combinado presente en las tortas analizadas (0.314%) nos hace pensar que las semillas de algodón fueron sometidas a un proceso de precalentamiento antes de la extracción del aceite, la cual en la mayoría de los casos se efectuó por presión.

En estudios ya mencionados, acerca de la toxicidad del gosipol se encontró que la máxima cantidad de gosipol libre en la dieta de los animales sensibles, que se podría dar sin peligro era:

0.010% a cerdos (Radeleff 1970).

0.024% a conejos (Carruth 1915).

0.030% a pollos (Heywang y Kemmerer 1966).

0.001% a gallinas ponedoras (Heywang, Bird y Alstchul 1955).

Según estos valores, las tortas analizadas en este trabajo resultarían peligrosas para el consumo animal, puesto que tienen un contenido promedio de gosipol libre de 0.085%. Este hecho es de gran importancia puesto que la mayoría de estas tortas son utilizadas directamente por los campesinos que mezclan dichas tortas en las dietas en una forma empírica.

Pasando a analizar la significancia de los valores de las concentraciones de gosipol en los concentrados a base de semillas de

algodón podemos afirmar que las concentraciones de gosipol libre encontradas en ellos (valor promedio de 0.008%), no pueden ofrecer mayor peligro en la mayoría de los casos, siempre que los subproductos de algodón, no entren a formar parte de la dieta en una proporción elevada, o la dieta sea exclusivamente a base de estos concentrados. Es importante tener en cuenta que solo 0.001% de gosipol libre en la dieta de gallinas ponedoras, es suficiente para que los huevos se pigmenten.

Queremos hacer resaltar, al igual que han hecho otros autores (Hassan et al. 1965, Pons et al. 1953,) la importancia que tendría la utilización de semillas con bajo contenido en gosipol para la elaboración de las tortas o subproductos empleados en la alimentación humana o animal.

La variedad de la semilla de algodón y el sitio de cultivo tienen influencia en el contenido de gosipol (libre, total y combinado) de las mismas.

De las variedades de semillas de algodón analizadas, la que presentó el menor contenido en gosipol fue la variedad Gbefa cultivada en Nataima.

Las tortas de semillas de algodón que se están produciendo actualmente en el país, tienen más contenido en gosipol libre que el permitido para que no se presenten anomalías en los animales que las consumen y se obtenga un rendimiento adecuado con su uso.

Tomando como base las concentraciones altas de gosipol libre y combinado encontrados en las tortas de semillas de algodón analizadas podemos concluir que el proceso que se está utilizando actualmente en el país, para la obtención de dichas tortas, no es el más adecuado.

Actualmente se están produciendo en el país concentrados a base de semillas de algodón que en su mayoría no ofrecen peligro de intoxicación por gosipol, probablemente por la baja concentración en que la torta entra a formar parte del concentrado.

Sería aconsejable:

a) Incrementar la plantación de algodón con semillas de bajo contenido en gosipol.

b) Mejorar los métodos de extracción del aceite y de elaboración de las tortas.

RESUMEN

Con el fin de obtener cifras reales sobre las concentraciones de gosipol en semillas de algodón y en sus subproductos, se realizó el análisis del contenido de gosipol libre, total y combinado, en muestras de diferentes productos de origen nacional.

Se analizaron en total 90 muestras distribuidas así:

21 muestras de diferentes variedades de semillas de algodón.

26 muestras de tortas de semillas de algodón.

43 muestras de concentrados comerciales a base de semillas de algodón.

SUMMARY

The amount of total, free and combined gossypol in cotton seed and some by - products were determined.

Among 90 samples, 21 samples were cotton seeds, 26 samples were cotton seed cakes, and 43 samples were commercial products for animal feeding.

RÉSUMÉ

Dans le but de préciser le contenu réel en gossypol des semences de coton et de ses sousproduits, nous avons dosé le gossypol libre, total et combiné dans 21 échantillons de semences de diverses variétés, 26 échantillons de tourteaux et 43 échantillons de concentrés commerciaux.

BIBLIOGRAFIA

- ABOU-DONIA, M. B. y C. M. LYMAN. 1970. Metabolic fate of Gossypol: The metabolism of Gossypol ^{14}C in laying hens. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 17: 160.
- ADAMS, R., R. C. MORRIS, T. A. GEISSMAN, D. J. BUTTERBAUGH y E. C. KIRK-PATRICK. 1938a. Structure of Gossypol. XV. An interpretation of its reaction. *J. Am. Chem. Soc.* 60: 2193.
- ADAMS, R., C. C. PRICE y W. R. DIAL. 1938b. Structure of Gossypol. V. Aniline derivatives. *J. Am. Chem. Soc.* 60: 2168.
- ADAMS, R., T. A. GEISSMAN y J. D. EDWARDS. 1960. Gossypol, a pigment of cottonseed. *Chem. Rev.* 60: 565.

- ALBRECHT, J. E., A. J. CLAUSON, L. C. ULRICH y F. H. SMITH. 1968. Effect of high Gossypol cottonseed meal on the electrocardiogram of swine. *J. Animal Sci.* 27: 976.
- BALIGA, B. P. y A. E. LYMAN. 1957. Preliminary report on the nutritional significance of bound Gossypol in cottonseed meal. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 34: 21.
- BALIGA, B. P., M. E. BAYLISS y C. M. LYMAN. 1959. Determination of free lysine e-amino groups in cottonseed meals and preliminary studies on relation to protein quality. *Arch. Biochem. Biophys.* 84: 1.
- BOATNER, C. H., M. CARAVELLA y C. S. SAMUELS. 1944. A orange pigment of cottonseed. *J. Am. Chem. Soc.* 66: 834.
- BOATNER, C. H., M. CARAVELLA y KAYME. 1944. Quantitative determination of extractable Gossypol in cottonseed and cottonseed meal. A spectrophotometric method. *Ing. Eng. Chem., Anal. ed.* 16: 566 - 572.
- BRAHAM, J. E., R. JARQUIM, R. BRESSANI, J. M. GONZÁLEZ y L. G. ELIAS. 1967a. Effect of calcium and Gossypol on the performance of swine and on certain enzymes and other blood constituents. *J. Nutr.* 91: 47.
- BRAHAM, J. E., R. JARQUIM, R. BRESSANI, J. M. GONZÁLEZ y L. G. ELIAS. 1967b. Effect of Gossypol on the iron - binding capacity of serum in swine. *J. Nutr.* 93: 241.
- BRESSANI, R., L. G. ELIAS y J. E. BRAHAM. 1964. All vegetable protein mixtures for human feeding. XV. Studies in dogs on the absorption of Gossypol from cottonseed flour containing vegetable protein mixtures. *J. Nutr.* 83: 209.
- BRESSANI, R., L. G. ELIAS, S. de ZAGHI, L. MOSOVICH y F. VITERY. 1966. The protein quality of cottonseed prepared by two different industrial processes. *J. Agric. Food Chem.* 14: 493.
- CARRUTH, F. E. 1918. Contribution to the chemistry of Gossypol, the toxic principle of cottonseed. *J. Am. Chem. Soc.* 40: 647.
- CLARK, E. P. 1927. Studies on gossypol. I. The preparation, purification and some of properties of Gossypol, the toxic principle of cottonseed. *J. Biol. Chem.* 75: 725.
- CLARK, E. P. 1928. Gossypol isolated by decomposition in concentrated sulphuric acid of precipitate from aniline extract of cooked cottonseed. *J. Biol. Chem.* 76: 229 - 235.
- CLAUSSON, A. J., F. H. SMITH, J. C. OSBORN y E. R. BARRICK. 1961. Effect of protein source autoclaving and lysine supplementation on Gossypol toxicity. *J. Animal Sci.* 20: 547.
- CLAUSSON, A. J. y F. H. SMITH. 1966. Effect of dietary iron on Gossypol toxicity and on residues of Gossypol in porcine liver. *J. Nutr.* 89: 307.
- EDWARDS, J. D. JR. 1958. Total synthesis of Gossypol. *J. Am. Chem. Soc.* 80: 3798.

- GALLUP, W. D. 1927. Studies on the toxicity of Gossypol. *J. Agr. Res.* 34: 987.
- GRAU, C. R., E. ALLEN, M. NAGUMO, C. L. WORONICK y P. A. ZWEIGART. 1954. Cottonseed meal in poultry feed, a distinctive yolk component in fresh eggs of hens fed Gossypol. *J. Agr. Food Chem.* 2: 982.
- HAINES, C. E., H. D. WALLACE y M. KOGER. 1957. The value of soybean oil meal, low Gossypol (degossypolized) solvent processed. Cottonseed meal, low Gossypol expeller procesed cottonseed meal and various blends thereof in relation of growing fattening swine. *J. Animal Sci.* 16: 12.
- HALE, F. y C. M. LYMAN. 1948. In. Bailey, A. E. Cottonseed products, their chemistry and chemical technology. Wiley Interscience, New York. Cap. 21.
- HALE F. y C. M. LYMAN. 1957. Effect of protein level in theration of Gossypol tolerance in growing pigs. *J. Animal Sci.* 16: 364.
- HALVERSON, J. O. y F. H. SMITH. 1937. Extraction of Gossypol with different ethers. *Ind. Eng. Chem., Anal. ed.* 9: 516
- HASSAN, K., A. ANWAR y J. I. IBRAHIM. 1965. Factors affecting total and free Gossypol contents of home-produced cottonseed meals. *Chemical Abstract.* 63: 1157h.
- HEYWANG, B. W. y H. R. BIRD. 1954. Egg production, diet consumption and liver weight in relation to the free Gossypol content of the diet. *Poultry Sci.* 33: 851.
- HEYWANG, B. W., H. R. BIRD y A. M. ALSTCHUL. 1955. Relationship between discolorations in eggs and dietary free Gossypol supplied by different cottonseed products. *Poultry Sci.* 34: 81.
- HEYWANG, B. W. y A. R. KEMMERER. 1966. Effect of Gossypol source and level on chick growth. *Poultry Sci.* 45: 1429.
- HOFFPAUIR, C. L., J. A. HARRIS y J. P. HUGHES. 1960. Gossypol acetic acid as a reference standard in the determination of Gossypol. *J. Assoc. Offic. Agr. Chem.* 43: 329.
- HOLLON, B. F., R. K. WAUGH, G. H. WISE y F. H. SMITH. 1958. Cottonseed meals as the primary protein supplement in concentrate feeds for young calves. *J. Dairy Sci.* 41: 286.
- JARQUIM, R., R. BRESSANI, L. G. ELIAS, C. TEJADA, M. GONZÁLEZ y J. E. BRAHAM, 1966. Effect of cooking and calcium and iron supplementation on Gossypol toxicity in swine. *J. Agr. Food Chem.* 14: 275.
- KAZANTEV, M. y H. V. THYONG. 1967. Method of determination of total Gossypol and its fractions in cotton products. *Izv. Timiryazev. Sel'skokhoz Akad. (Russ).* 3: 192.
- KEMMERER, A. R., B. W. HEYWANG, M. G. VAVICH y E. T. SHEEHAM. 1966. Effect of iron sulphate on eggs discoloration caused by Gossypol. *Poultry Sci.* 45: 1025.

- KUPPERMAN, R. P. y M. L. KARON. 1955. Effects of time and temperature of storage on the free and total Gossypol content of cottonseed meals and of mixed diets. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 32: 54.
- LIENER, I. E. 1969. Toxic constituents of plant foodstuffs. Academic Press, New York. p. 246.
- LYMAN, C. M., W. Y. CHANG y J. R. COUCH. 1953. Evaluation of protein quality in cottonseed meal by chick growth and by chemical method. *J. Nutr.* 49: 679.
- LYMAN, C. M., W. Y. CHANG y J. R. COUCH. 1955. The effect of free Gossypol on chick growth. *Poultry Sci.* 34: 178.
- LYMAN, C. M., B. R. HOLLAND y F. HALE. 1943. Determination of free Gossypol in cottonseed meal. A colorimetric method. *Ind. Eng. Chem., Anal. ed.* 15: 489 - 491.
- LYMAN, C. M. y C. WIDMER. 1966. Mode of action, sites of concentration and metabolic fate of Gossypol and Gossypol-like compounds. In. Liener, I. E. 1969. Toxic constituents of plant foodstuffs. Academic Press, New York. p. 250.
- MARTÍNEZ, W. A. y V. L. FRAMPTON. 1958. Lysine content of cottonseed meals. *J. Agr. Food Chem.* 6: 312.
- MARTÍNEZ, W. A., V. L. FRAMPTON y C. A. CABELL. 1961. Effect of Gossypol and raffinosa on lysine content and nutritive quality of proteins in meal from glandless cottonseed. *J. Agr. Food Chem.* 9: 64.
- PODOL'SKAIA, M. Z. 1948. In. Bailey, A. E. Cottonseed and cottonseed products, their chemistry and chemical technology. Wiley Interscience, New York, Cap. 21.
- PONS, W. A., JR., C. L. HOFFPAUIR y T. H. HOPPER. 1953. Gossypol in cottonseed: Influence of variety of cottonseed and environment. *J. Agr. Food Chem.* 1: 1115 - 1118.
- PONS, W. A., JR. y HOFFPAUIR, C. L. 1957. Determination of free and total gossypol in mixed feeds containing cottonseed meals. *J. Assoc. Offic. Agr. Chem.* 40: 1068.
- PONS, W. A., J. POMINSKI, W. H. KING, J. A. HARRIS y T. H. HOPPER. 1959. Recovery of Gossypol from cottonseed gums. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 36: 328.
- PONS, A. W. y P. H. EAVES. 1967. Aqueous acetone extraction of cottonseed. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 44: 464.
- RADELEFF, R. D. 1970. Veterinary Toxicology 2^a ed. Lea y Febiger, Philadelphia. p. 98.
- RAJU, P. J. y C. M. CARTER, 1967. Gas - Liquid Chromatographic determination of Gossypol as a trimethylsilyl ether derivative. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 44: 465.

- ROMMEL, G. M. y E. B. VEDDER. 1915. Beriberi and cottonseed poisoning in pig. *J. Agr. Res.* 5: 489.
- SCHAIBLE, P. J., S. L. BANDEMER y J. A. DAVIDSON. 1946a. Composition of fresh eggs from hens fed cottonseed and non cottonseed rations. I General Observations. *Poultry Sci.* 25: 440 - 445.
- SCHAIBLE, P. J., S. L. BANDEMER y J. A. DAVIDSON. 1946b. Composition of fresh and storage eggs from hens fed cottonseed and non cottonseed rations. III. Iron content. *Poultry Sci.* 25: 451.
- SCHAIBLE, P. J., S. L. BANDEMER y J. A. DAVIDSON. 1946c. Composition of fresh and storage eggs from hens fed cottonseed and cottonseed rations. IV. Spectrographic examination of the eggs whites. *Poultry Sci.* 25: 453 - 455.
- SCHAIBLE, P. J. y S. L. BANDEMER. 1956. Composition of fresh and storage eggs from hens fed cottonseed and non cottonseed rations. V. Cause of discoloration. *Poultry Sci.* 25: 285.
- SCHWARTZE, E. W. y C. L. ALSBERG. 1923. Quantitative variation of Gossypol and its relation on the oil content of cottonseed. *J. Agr. Res.* 25: 285.
- SHARMA, M. P., F. H. SMITH y A. J. CLAWSON. 1966. Effect of levels of protein and length of feeding period on the accumulation of Gossypol in tissues of swine. *J. Nutr.* 88: 434.
- SMITH, F. H. 1946. Estimation of Gossypol in cottonseed meal and cottonseed meats. *Ing. Eng. Chem., Anal. ed.* 18: 43 - 45.
- SMITH, F. H. 1965. Determination of free and bound Gossypol in swine tissues. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 42: 145.
- SMITH, F. H. y A. J. CLAWSON. 1965. Effect of diet accumulation of Gossypol in the organs of swine. *J. Nutr.* 87: 317.
- WEST, W. P. y L. J. CONRAD. 1950. Spot test detection of antimony by means of Gossypol. *Anal. Chem.* 22: 1336.
- WITHERS, W. A. y J. A. BREWSTER. 1913. Studies on cottonseed meal toxicity. II. Iron as antidote. *J. Biol. Chem.* 15: 161.
- WITHERS, W. A. y F. E. CARRUTH. 1915. Gossypol, the toxic substance in cottonseed meal. *J. Agr. Res.* 15: 261.
- WORONICK, C. L. y C. R. GRAU. 1955. Gossypol - cephalin compound from fresh eggs of hens feed cottonseed meal. *J. Agr. Food Chem.* 3: 706.