

EFECTO DEL ARILO DEL FRUTO DE *Blighia sapida* SOBRE EL GLUCÓGENO TOTAL DEL MOLUSCO *Geukensia demissa*

Effect of the *Blighia sapida* Fruit Arillus Upon *Geukensia demissa* Total Glycogen

Guillermo Fernández-Surumay¹, María G. Romero L.², Joyce Morris de Sanz¹, Gilberto Negrón G.¹, Gabriel Torres F.¹
y Martín Romero L.³

¹ Facultad de Ciencias Veterinarias, Apartado 15252. E-mail: gfernand@luz.ve

² Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina. ³ Escuela de Biología, Facultad Experimental de Ciencias.
Universidad del Zulia. Maracaibo 4005-A, estado Zulia, Venezuela

RESUMEN

Se realizó un diseño experimental para determinar el efecto de una solución del arilo del fruto de *Blighia sapida* (Merey del Diablo), sobre la concentración total de glucógeno en mejillones *Geukensia demissa* del Lago de Maracaibo, estado Zulia, Venezuela. Se utilizaron seis tratamientos: cinco experimentales y uno control. Los experimentales consistieron en exponer a grupos de cuatro mejillones a dosis de 1000, 1500, 2000, 2500 y 3000 mg/L de la solución durante 24 horas; a diferencia del control, que no incluyó dicha solución. De cada tratamiento se realizaron cuatro repeticiones. La concentración de glucógeno se determinó por la prueba cuantitativa de antrona, realizando las lecturas en un espectrofotómetro de luz visible a 620 nm. El análisis de varianza indicó que la solución del arilo del fruto de *B. sapida* en dosis de 1500 mg/L afecta de manera significativa ($P < 0,0007$) la concentración de glucógeno en los mejillones, aumentándola.

Palabras clave: *Blighia sapida*, arilo, *Geukensia demissa*, mejillón, glucógeno.

ABSTRACT

A study was made to determine the effect of a *Blighia sapida* fruit arillus solution, upon total glycogen concentration of *Geukensia demissa* mussels from Maracaibo Lake, Zulia state, Venezuela. It was used six treatments: five experimental and one control. Experimental treatments consisted in submitting groups of four mussels to doses of 1000, 1500, 2000, 2500 and 3000 mg/L respectively, for 24 hours. Control treatment did not include *B. sapida* fruit arillus solution. Each treatment

was repeated four times. Glycogen concentration was determined by anthrone quantitative test, reading the samples with a visible light spectrophotometer at 620 nm. Variance analysis showed that *B. sapida* fruit arillus solution at 1500 mg/L significantly affects mussel glycogen concentration ($P < 0.0007$), increasing it.

Key words: *Blighia sapida*, arillus, *Geukensia demissa*, mussel, glycogen.

INTRODUCCIÓN

Blighia sapida Koning es un árbol de la Familia Sapindaceae cuyo nombre común es "Ackee" o "Merey del Diablo", FIG. 1. Este árbol tropical puede llegar a medir más de 10 metros de altura, presenta hojas con 4 pares de folíolos elípticos, sus flores aromáticas son de color blanco-verdoso y su fruto es una cápsula triangular de color rojo, cuyas semillas negras están rodeadas de una masa blanca carnosa o arilo, que es comestible, FIGS. 2 y 3. [11, 12]. Se ha comprobado que la ingestión de este fruto produce un cuadro de intoxicación alimentaria caracterizado principalmente por una marcada hipoglicemia [8, 11, 25].

Otros signos clínicos de intoxicación relacionados con este fruto, tales como vómito severo, coma, debilidad y postración, han sido observados en el hombre y experimentalmente en monos, cobayos, ratas y ratones [20]. Estudios *in vitro*, han revelado un efecto broncoconstrictor del extracto de este fruto sobre el aparato traqueobronquial de ratas wistar [20]; asimismo, en México, se han reportado casos de intoxicación alimentaria en rumiantes por ingestión del mismo [12]. Todos estos efectos se atribuyen a un aminoácido no proteico aislado del extracto acuoso del fruto de *B. sapida* denominado β -metilenclopropilalanina [9, 14], llamado comúnmente hipoglicina [5].

El mecanismo de acción de la hipoglicina consiste en la interrupción de la oxidación de los ácidos grasos, trayendo como consecuencia que las reservas de glucógeno del organismo sean metabolizadas para obtener energía con agotamiento de los carbohidratos, produciéndose una hipoglicemia funcional [8, 19]. Estudios realizados con extractos enzimáticos purificados preparados con hígado de conejo, determinaron que la hipoglicina es metabolizada a nivel hepático como metilenciclopropilacetil-CoA. Este metabolito activo es el compuesto que impide la β -oxidación de los ácidos grasos, dismi-

nuyendo en forma drástica la actividad del enzima acyl-CoA deshidrogenasa en las mitocondrias [16, 26], y bloquea la transformación de los ácidos grasos en Acetil-CoA para ser incorporado al ciclo de Krebs [21].

Los mejillones (Mytilidae) son moluscos bivalvos que viven fijos a pilotes de muelles, rocas o lechos de ostras en grandes cantidades [3]. En estos animales, los músculos, el hepatopáncreas y la glándula digestiva contienen abundantes glúcidos, de los cuales el glucógeno es el homopolisacárido que se encuentra en mayor proporción [4]. El rol que juega el glucógeno de la glándula digestiva de estos animales es comparable con el del hígado y músculos en los mamíferos [2]. Por lo anteriormente expuesto, los objetivos de esta investigación fueron: en primer lugar, determinar cómo afecta la solución del arilo del fruto de la *B. sapida* a la concentración total de glucógeno en el mejillón *Geukensia demissa* y en segundo lugar, emplear con fines experimentales, una prueba biológica que



FIGURA 1: ÁRBOL DE *Blighia sapida*.

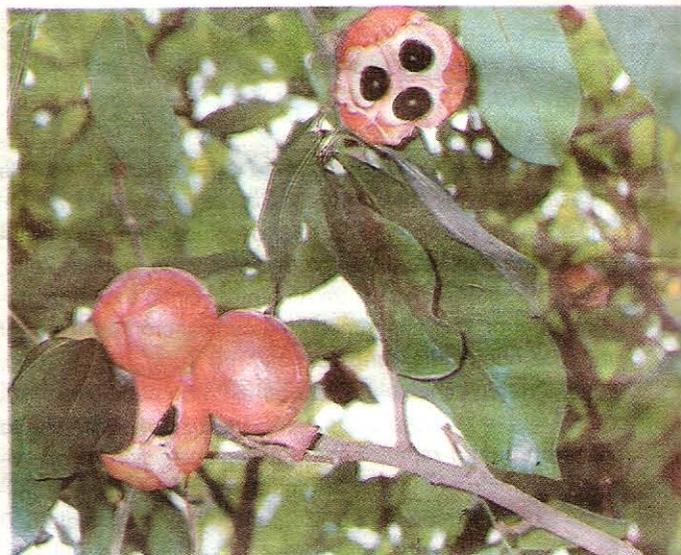


FIGURA 2: FRUTOS DE *Blighia sapida* CERRADOS Y ABIERTOS MOSTRANDO LAS SEMILLAS CON SUS ARILOS.



Blighia sapida
 ARILO: Porción superior
 SEMILLA: Porción inferior

FIGURA 3: SEMILLAS DE *Blighia sapida* CON SUS RESPECTIVOS ARILOS.



FIGURA 4: MEJILLONES *Geukensia demissa* EN EL SITIO DE LA COLECTA.

permita detectar el efecto de cualquier sustancia sobre el glucógeno de los mejillones, que es una especie acuática abundante en el estado Zulia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para realizar el experimento se utilizó un diseño completamente al azar, para lo cual se recolectaron un total de 246 mejillones de la especie *G. demissa*, extraídos del lago de Maracaibo. Ciento cincuenta (150) de ellos se usaron para la determinación de la mortalidad, noventa y seis (96) para la prueba biológica, FIG. 4. Cada unidad experimental se constituyó de 4 mejillones, que fueron sometidos a un mismo tratamiento e iguales condiciones ambientales y se ubicaron en una misma pecera, de medio ambiente uniforme.

Colecta y mantenimiento de los mejillones

La colecta se realizó en las costas del Lago de Maracaibo, en una playa del municipio Mara ubicada en el caserío "La Rosita" (71° 43' Latitud Norte, 10° 47' Longitud Oeste), situado a 35 Kilómetros al norte de la ciudad de Maracaibo, Edo. Zulia. En total, se realizaron cinco colectas, de las cuales cuatro fueron utilizadas para realizar pruebas de mortalidad y la última, para la prueba biológica. En cada ocasión, se midió la salinidad del agua del medio con un salinómetro óptico, para preparar el agua de las peceras que contendrían los mejillones, diluyendo una sal comercial para acuarios (*Instant Ocean*) en agua destilada. Los mejillones se mantuvieron por espacio de 48 horas en peceras de vidrio redondas con capacidad de 1,5 litros, de 15 centímetros de diámetro por 12 centímetros de alto. Las primeras 24 horas se emplearon para la adaptación de los individuos al medio y las 24 restantes, para la aplicación de los tratamientos [17].

Preparación de la solución del arilo del fruto de *B. sapida*

Se pesaron 812 gramos de arilo del fruto de *B. sapida* en una balanza analítica (*Scaltec SBA 33*). Posteriormente, dicho material vegetal se trituró a alta velocidad por 10 minutos en una licuadora con 4,06 litros de etanol al 80% en una proporción de 1 parte de material vegetal en 5 partes de etanol [15]. El producto obtenido se dejó reposar durante un período de 24 horas a una temperatura de 25°C y se evaporó hasta sequedad con un evaporador rotativo (*Buchler Instruments, USA*). La temperatura de evaporación se mantuvo en 50°C ± 2 y la presión de vacío se estableció en 58 cmHg con ayuda de un equipo extractor de contenido gástrico (*Medi-Pump, USA*). Luego, se pesaron los 17,5 gramos de extracto obtenidos y se disolvieron en un litro de agua destilada hasta obtener una solución concentrada de 17500 mg/L [16].

Determinación de mortalidad en los mejillones

Con la finalidad de medir la capacidad de sobrevivencia de los mejillones a la solución de *B. sapida* y posterior hallazgo de las dosis experimentales óptimas de la misma en las peceras, se realizaron 5 pruebas de determinación de la mortalidad en mejillones. Cada una de las pruebas consistió en separar 35 mejillones en 7 grupos de 5 unidades cada uno y exponerlos a diferentes dosis de la solución de *B. sapida* (2000, 1000, 500, 100, 50 y 10 mg/L) durante 24 horas y observar si ocurría la muerte, que se confirmaba si las valvas del mejillón estaban abiertas y su materia corporal se encontraba en estado de descomposición.

Prueba biológica

Se utilizaron seis tratamientos, cinco experimentales y uno control, con cuatro repeticiones para cada uno. Todas las repeticiones se realizaron el mismo día, en el mismo espacio de tiempo y en el mismo lugar, debido a que las condiciones del diseño experimental así lo requieran. Los tratamientos experimentales consistieron en adicionar a las peceras la solución de *B. sapida* en cantidades exactas para obtener dosis de 1000, 1500, 2000, 2500 y 3000 mg/L. Estas dosis fueron establecidas en un pre-ensayo realizado bajo las mismas condiciones del actual. El tratamiento control consistió en mantener a los mejillones bajo las mismas condiciones, pero sin adicionar la mencionada solución.

Determinación cuantitativa de glucógeno

Para realizar la extracción del glucógeno se utilizó la técnica descrita por Alemany y Font [1]. Dicha extracción se realizó 24 veces. El glucógeno obtenido se diluyó en un volumen inicial de 100 mL y, posteriormente, se realizaron las diluciones necesarias para que la lectura de absorbancia entrara en el rango establecido. La concentración de glucógeno en la muestra fue calculada mediante la prueba cuantitativa de an-

trona. Se tomaron 24 tubos de ensayo y se les agregó 2,5 mL de reactivo antrona (*Sigma*) a cada uno, introduciéndolos en un baño de agua fría a una temperatura de 10 a 15°C. A cada tubo se le añadieron 1,25 mL de muestra y al blanco 1,25 mL de agua destilada, deslizándolos cuidadosamente por las paredes de estos. Todos los tubos se agitaron dentro del baño de agua fría hasta que se observaron las dos fases bien mezcladas. Se sacaron del baño, se colocaron en la gradilla hasta alcanzar temperatura ambiente y se trasladaron a un baño de agua con temperatura controlada a 90°C por 16 minutos. Al sacarlos, se llevaron de nuevo al baño de agua fría hasta temperatura ambiente e inmediatamente se leyó la absorbancia de cada una de las muestras, previamente diluidas, en un espectrofotómetro (*Shimadzu UV-1201*) a 620 nm [24].

Cálculo de la concentración de glucógeno

Para la construcción de la curva patrón se prepararon 5 soluciones a partir de un estándar comercial de glucógeno de mejillón (*Sigma*), cuyas concentraciones fueron 0,6 µg/mL; 1,2 µg/mL; 1,5 µg/mL y 1,8 µg/mL y se leyó su absorbancia (ABS), empleando la prueba de la antrona [13]. De esta manera se estableció el rango permitido para la lectura de las muestras, entre 0,220 y 0,415 aproximadamente. Basándose en esto, las muestras fueron diluidas tantas veces como fuese necesario para que entraran en el rango de lectura y luego de obtenida la concentración de glucógeno, ésta se multiplicó por el factor de dilución con el fin de estandarizar el procedimiento. La concentración de glucógeno en las muestras de tejido de mejillón se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$[] \text{Glucógeno} = \frac{\text{ABS de la Muestra}}{\bar{X} \text{ ABS de los Patrones}} \times \bar{X} [] \text{Glucógeno de los Patrones}$$

El resultado se ajustó a un gramo de muestra y se expresó en miligramos de glucógeno por gramo de muestra de tejido de mejillón.

Análisis estadístico

Los resultados del ensayo se analizaron utilizando el paquete estadístico computarizado S.A.S. (Statistical Analysis System) [23], realizando una comparación entre las medias de

tratamientos utilizando las pruebas de Dunnett y Tukey. La significación del modelo estimado se determinó mediante un análisis de varianza.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La determinación de mortalidad, realizada previo a la cuantificación del glucógeno total en los mejillones *G. demissa*, demostró que la exposición de los mejillones a la solución de *B. sapida* en dosis entre 10 y 7500 mg/L, no ocasiona la muerte de los mismos. En la TABLA I se observa la concentración de glucógeno total en los mejillones del tratamiento N° 3 (1500 mg/L), en el cual se observó un aumento significativo ($P < 0,0007$) en la concentración del polisacárido, mientras que los tratamientos restantes no produjeron modificaciones, FIG. 5. Este mismo resultado se observó en las cuatro repeticiones. La prueba de Tukey determinó que la única media estadísticamente diferente a todas las demás, fue la del tratamiento N° 3, ya que el resto de las medias se comportaron igual entre sí.

Las dosis de 1000, 2000, 2500 y 3000 mg/L de la solución de *B. sapida*, produjeron poca variación en la concentración total de glucógeno, en relación con el control. En la TABLA II se presentan las medidas descriptivas del efecto de las diferentes dosis de la solución sobre la concentración de glucógeno en los mejillones. Estadísticamente, los efectos de las dosis reseñadas no difieren entre sí, por lo que se deduce que en estos casos, no hubo efecto significativo sobre la concentración de glucógeno presente en el mejillón.

Caso contrario ocurrió con la dosis de 1500 mg/L, donde la concentración de glucógeno se elevó muy por encima de la del grupo control y demás grupos del experimento. Esto pudo deberse a que a dicha dosis, uno o varios componentes presentes en la solución de *B. sapida*, actuaron como inhibidores enzimáticos alterando el proceso de regulación metabólica, ya que al estar bloqueada la vía de la β -oxidación de ácidos grasos, los triacilglicerolés del mejillón pudieron transformarse, mediante varios pasos enzimáticos, nuevamente en glucógeno [21]. Aunque no se evidenció una diferencia significativa en la concentración de glucógeno a la dosis de 2000 mg/L, ésta fue

TABLA I
PROMEDIO DEL PESO DE LAS MUESTRAS Y CONCENTRACIÓN DE GLUCÓGENO POR GRAMO DE MUESTRA PARA CADA TRATAMIENTO

N° de Tratamiento	Dosis de la solución de <i>B. sapida</i> en mg/L	Promedio del peso de las muestras (g)	Promedio de la concentración de glucógeno (mg) por 1 g de muestra
1	-	9,2	190,7
2	1000	9,2	242,1
3	1500	8,7	516,8
4	2000	8,5	261,7
5	2500	9,9	170,6
6	3000	10,2	194,9

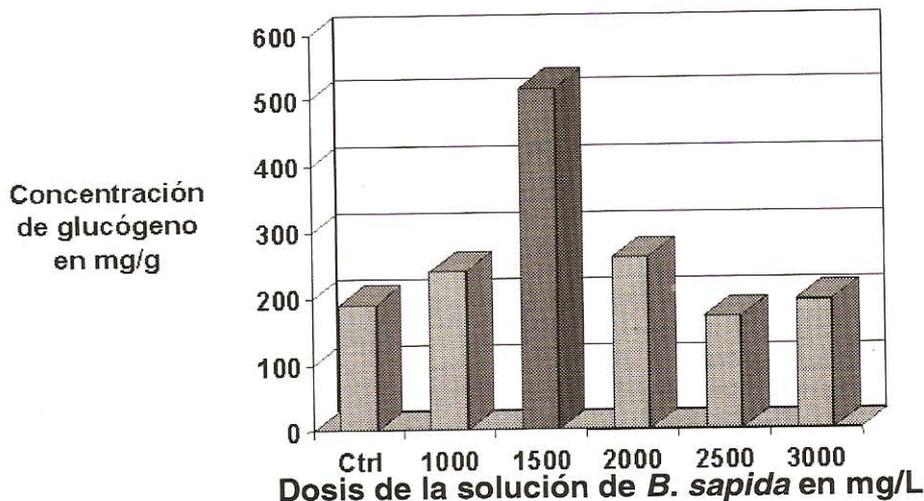


FIGURA 5: EFECTO DE LA DOSIS DE LA SOLUCIÓN DE *Blighia sapida* SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE GLUCÓGENO EN mg/g.

TABLA II
MEDIDAS DESCRIPTIVAS DEL EFECTO DE LA SOLUCIÓN DE *B. sapida* A DIFERENTES DOSIS SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE GLUCÓGENO EN LOS MEJILLONES

Nº de Tratamiento	Dosis de la solución de <i>B. sapida</i> en mg/L	\bar{X} de la concentración de glucógeno (mg) por 1 g de muestra	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Valor Mínimo	Valor Máximo
1	-	190,75	78,16	40,97	112,83	275,97
2	1000 mg/L	242,18	23,96	9,89	216,85	273,63
3	1500 mg/L	516,85	115,75	22,39	513,92	603,79
4	2000 mg/L	261,70	157,60	60,22	186,07	495,53
5	2500 mg/L	170,65	16,44	9,63	153,85	193,33
6	3000 mg/L	194,90	97,46	50	142,76	341,05

mayor que la del grupo control, lo que indica que el proceso de regulación metabólica también fue afectado pero con menor intensidad.

Es posible que la síntesis de glucógeno también se haya visto afectada por un control hormonal. En los mamíferos, la insulina, hormona proteínica responsable del metabolismo de la glucosa, estimula la síntesis de glucógeno al promover la desfosforilación y activación de la enzima glucógeno sintetasa, la cual participa activamente en la síntesis de glucógeno en todas las especies animales [21] y posee gran actividad en el metabolismo del mismo, en los mejillones [2, 7]. En mejillones de la especie *Mytilus edulis*, se han identificado péptidos envueltos en el control del crecimiento, similares en cuanto a estructura química y función, a la hormona insulina de los mamíferos [10, 18]. En un estudio en el que se determinó la participación de una sustancia similar a la insulina, denominada "insulin-like substance", en la regulación del metabolismo en mejillones, se observó que en estas especies dicha sustancia posee el mismo efecto que la insulina en los mamíferos [22], por lo que se sugiere la intervención de la misma en un aumento indirecto de la concentración de glucógeno en los mejillones de este experimento mediante la estimulación de la enzima glucógeno sintetasa, de lo cual se puede inferir que dicha par-

ticipación pudo haber sido estimulada por la solución de *B. sapida* en dosis entre 1500 y 2000 mg/L. Sobre la base de las observaciones anteriores, se señala la posibilidad de que la concentración total de glucosa en los mejillones, descendiera a medida que aumentaba la concentración de glucógeno, debido a que la síntesis de glucógeno implica la unión de varias moléculas de α -D-Glucosa por medio de enlaces tipo α (1-4) para formar Glucógeno [6].

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La solución de *B. sapida* en dosis de 1500 mg/L, produce un aumento altamente significativo de la concentración total de glucógeno en los mejillones *G. demissa*. No se observaron variaciones significativas en la concentración de glucógeno al utilizar dosis de 1000, 2000, 2500 y 3000 mg/L. Sin embargo, se recomienda realizar estudios posteriores para determinar la variación de la concentración de glucógeno en mejillones expuestos a dosis entre 1000 y 2000 mg/L, con una separación de 100 mg/L entre una y otra. Así mismo, se recomienda realizar investigaciones que conlleven a la determinación de la concentración de glucosa en mejillones *G. demissa* con los tratamientos empleados en el presente trabajo, para poder ve-

rificar si la concentración de glucosa disminuye al ser utilizada para la biosíntesis de glucógeno. También sería conveniente realizar estudios *in vitro* de la actividad de la enzima glucógeno sintetasa en los mejillones, utilizando como sustrato glucosa 6 fosfato.

AGRADECIMIENTO

Los autores desean expresar su agradecimiento a las siguientes instituciones y dependencias, por el apoyo financiero y colaboración recibida durante la realización de este trabajo: División de Investigación y Cátedra de Bioquímica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia y al Laboratorio de Invertebrados Acuáticos de la Facultad Experimental de Ciencias de LUZ.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ALEMANY, M.; FONT, S. **Prácticas De Bioquímica**. Editorial Alhambra. 1^{ra} Edición. Madrid, España:99 - 103. 1982.
- [2] ALEMANY, M.; ROSELL-PÉREZ, M. Glycogen Content in The Tissues of *Mytilus edulis*, L. **Rev. Esp. Fisiol.** 32:81-82. 1976.
- [3] BARNES, R. **Zoología de los Invertebrados**. Editorial Interamericana McGraw-Hill. 5^{ta} Edición. México:435 - 457. 1989.
- [4] BAUTISTA, C. **Moluscos. Tecnología de Cultivo**. Ediciones Mundi-Prensa. 1^{ra} Edición. Madrid, España:15 - 21, 30, 57. 1988.
- [5] BONNER, J.; VARNER, J. E. **Plant Biochemistry**. Academic Press. 2nd Edition. New York:385. 1965.
- [6] CHAMPE, P.; HARVEY, R. **Biochemistry**. J. B. Lippincott Company. 2nd. Edition. Philadelphia:135-139. 1994.
- [7] CRESPO, C.A.; ESPINOSA, J. Variabilidad zonal y cambios estacionales en el contenido de glucógeno y glucosa del manto de *Mytilus*. **Rev. Esp. Fisiol.** 45(2): 117-122. 1989.
- [8] EVANS, C. **CRC Handbook of Naturally Ocurring Food Toxicants**. CRC Press. Boca Raton:7-8. 1983.
- [9] FOUNGBE, S.; NAHO, Y.; DECLUME, C. Etude Expérimentale de la toxicité des arilles de *B. sapida* (Sapindacées) en rapport avec l'intoxication des enfants de Katiola (Côte-d'Ivoire). **Ann. pharmaceutiques françaises**. 44(6):509-515. 1986.
- [10] FRITSCH, HA.; VAN NOORDEN, S.; PEARSE, AG. Cytochemical and immunofluorescence investigations of insulin-like producing cells in the intestine of *Mytilus edulis* L. (Bivalvia). **Cell Tissue Res.** 165(3):365-369. 1976.
- [11] GARG, H.S.; MITRA, C.R. *B. sapida*. I. Constituents of the fresh fruit. **Planta Med.** 1:74-80, 1967.
- [12] GONZÁLEZ, A. **Plantas Tóxicas para el Ganado Bovino**. Editorial Limusa, S.A. de C.V. 1^{ra} Edición. México: 78. 1989.
- [13] IZQUIERDO, P.; UZCATEGUI, S.; TORRES, G. **Manual de Prácticas de Bioquímica II**. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Del Zulia. (Mimeografiado). 5 pp. 1996.
- [14] KEAN, E. A. Commentary on a Review on the Mechanism of Ackee-induced Vomiting Sickness. **W.I. Med. J.** 37:139-142, 1988.
- [15] KEAN, E. A. Improved method for isolation of hypoglycins A and B from fruit of *B. sapida*. **J. Pharm. Pharmac.** 26:639-640, 1974.
- [16] KEAN, E. A. Selective Inhibition of Acyl-CoA Dehydrogenases by a Metabolite of Hypoglycin. **Biochim. Biophys. Acta.** 422:8-14, 1976.
- [17] KELA, S.L.; OGUNSUSI, R.A.; OGBOGU, V.C.; NWUDE, N. Screening of some Nigerian plants for molluscicidal activity. **Rev. Elev. Med. Vet. Pays. Trop.** 42(2):195-202, 1989.
- [18] KELLNER-COUSIN, K.; MIALHE, E.; MATHIEU, M. Identification of insulin-like peptides in cerebral ganglia neurosecretory cells of the mussel *Mytilus edulis*. **Tissue Cell.** 26(6):891-899, 1994.
- [19] KLAASSEN, C. **Casarett & Doull's Toxicology The Basic Science of Poisons**. McGraw-Hill. Fifth Edition. International Edition:841, 933. 1996.
- [20] MELVILLE, G.; ADDAE, J. Effects of Ackee Fruit Extracts on Bronchomotor Tone in Rats. **W.I. Med. J.** 37:97-99, 1988.
- [21] MURRAY, R.; MAYES, P.; GRANNER, D.; RODWELL, V. **Bioquímica de Harper**. Editorial El Manual Moderno, S.A. de C.V. 12^{va} Edición. México D.F.:189. 1992.
- [22] PLISETSKAIA, EM.; SOLTITSKAIA, LP.; LEIBSON, LG. Participation of insulin in regulating the metabolism of marine bivalve mollusks. **Zh Evol Biokhim Fiziol.** 15(3):288-294, 1979.
- [23] STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **SAS/STAT™ Guide for Personal Computers**. Version 6 Edition. Cary, NC. 378 pp. 1985.
- [24] SCOTT, T.; MELVIN, E. Determination of Dextran with Anthrone. **Anal. Chem.** 25:1.656-1.658, 1953.
- [25] SINGH, P.; GARDNER, B.; PODDAR, S.; CHOO-KANG, E.; COARD, K.; RICKARDS, E. Toxic Effects of Ackee Oil (*Blighia sapida* L) Following Subacute Administration to Rats. **W.I. Med. J.** 41:23-26, 1992.
- [26] WENZ, A.; THORPE, C.; GHISLA, S. Inactivation of General Acyl-CoA Dehydrogenase from Pig Kidney by a Metabolite of Hypoglycin A. **J. Biol. Chem.** 256(19): 9809-9812, 1981.